

# भारत का राजपत्र The Gazette of India

असाधारण  
EXTRAORDINARY

भाग II—खण्ड 3—उप-खण्ड (I)  
PART II—Section 3—Sub-section (I)

प्राधिकार से प्रकाशित  
PUBLISHED BY AUTHORITY

सं० 133]  
No. 133]

नई दिल्ली, बुधवार, मार्च 26, 1987/चैत्र 5, 1909  
NEW DELHI, THURSDAY, MARCH 26, 1987/CHAITRA 5, 1909

इस भाग में भिन्न पृष्ठ संख्या दी जाती है जिससे कि यह अलग संकलन के रूप में  
रखा जा सके

Separate Paging is given to this Part in order that it may be filed as  
a separate compilation

स्वास्थ्य और परिवार कल्याण मंत्रालय  
(स्वास्थ्य विभाग)

नई दिल्ली, 26 मार्च, 1987

अधिसूचना

सा का नि 309(अ).—श्रीपथि और प्रसाधन सामग्री नियम 1945 का और संशोधन करने के लिए कतिपय नियमों का निम्नलिखित प्रारूप जिसे केन्द्रीय सरकार श्रीपथि और प्रसाधन सामग्री अधिनियम, 1940 (1940 का 23) की धारा 12 और 33 द्वारा प्रदत्त शक्तियों का प्रयोग करते हुए श्रीपथि-नकलीकी परामर्शी बोर्ड से परामर्श करने के पश्चात् बनाने की प्रस्थापना करती है, उक्त धारा की अपेक्षानुसार ऐसे सभी व्यक्तियों की जानकारी के लिए प्रकाशित किया जाता है जिनके हमने प्रभावित होने की संभावना है और इनके द्वारा यह सूचना दी जाती है कि उक्त नियमों पर उस तारीख से, जिसको राजपत्र की प्रतियां जिसमें यह प्रकाशित की जाती है, जनता को उपलब्ध करा दी जाती हैं, साठ दिन की अवधि की समाप्ति या उसके पश्चात् बिनार किया जाएगा।

ऐसे आक्षेपों और सुझावों पर जो पूर्वाक्त साठ दिन की अवधि की समाप्ति से पूर्व किसी व्यक्ति से प्राप्त होंगे केन्द्रीय सरकार विचार करेंगे।

आक्षेप या सुझाव, यदि कोई हो, सचिव, भारत सरकार, स्वास्थ्य और परिवार कल्याण मंत्रालय, नई दिल्ली को भेजे जाएँ।

प्राप्त नियम

1. इन नियमों का संक्षिप्त नाम श्रीपथि और प्रसाधन सामग्री (संशोधन) नियम, 1987 है।

2. श्रीपथि और प्रसाधन सामग्री नियम, 1945 की अनुसूची न(i), भाग 1 में,—

जीवाणिक बैक्टीरिया के उत्पादन को लागू उपबन्ध (1) "अ" शीर्षक के अधीन;

(क) पैरा 3 में प्रविष्टि 6 के पश्चात् निम्नलिखित प्रविष्टियां प्रस्तावित की जाएंगी, अर्थात्,—

"7 बहुघटक एनोस्ट्राइडीएन बैक्टीरिया।

"8. रक्तोन्मूलकी सैप्टिकेमिया बैक्टीरिया फिटकरी से अभिक्रियित"

(ख) पित्तवर्धक "एन्ट्रोसम स्फार बैक्टीरिया (जीविन)" के अधीन,

(i) पैरा 4 में, मानक (छ) के स्थान पर निम्नलिखित रखा जाएगा, अर्थात् :—

“(छ) जीवाणु गणना—जब बैक्टीरिया उपयुक्त माध्यम पर प्लेटिंग की जाये तो प्रत्येक खुराक में एक करोड़ जीवाणु स्पष्ट दिखाई देंगे।”

(ii) पैरा 6 के स्थान पर, निम्नलिखित रखा जाएगा, अर्थात् :—

“6. अवसान की तारीख—बैक्टीरिया की शक्ति के अवसान होने की तारीख विनिर्माण की तारीख से दो वर्ष से अधिक नहीं होगी, यदि 4° से. सेल्स के अन्तर्गत रखी जाए, और छह मास से अधिक नहीं होगी यदि कोठरी की ऊष्मा पर रखी जाए”;

(ग) अन्त में निम्नलिखित विनिर्माण और प्रविष्टियाँ अस्त-स्थायित्व की जाएंगी, अर्थात् :—

“बहुवर्षक क्लोस्ट्रिडियम बैक्टीरियम

1. पर्यायवाची—क्लोस्ट्रिडियम पर फिजिओस टाइप “ग” और “क”, ग 1 सैटिकम और ग 1 ओडिमाटिफ़ेस का संयुक्त प्रनाकम्बर।

2. परिभाषा—यह चार उष्ण एंटीजीवक घटकों से मिलकर बनती है जिसमें ग 1 परफिजिओस टाइप “क”, ग 1 टाक्साइड (प्रविषाम) प्रत्यक्षित है पर फिजिओस टाइप ग, ग 1 ओडिमाटिफ़ेस और ग 1 सैटिकम के विशिष्ट द्विगुणात्मक शक्ति में तैयार किया जाता है और जब ऐसे अनुपात में मिलाया जाता है जो बैक्टीरिया लिए गए भेड़ में बैक्टीरिया में समाविष्ट प्रत्येक एन्टीजन के विशुद्ध पर्याप्त एन्टिबैक्टीरियल प्रतिक्रिया उभार सके।

3. विनिर्माण—उपरोक्त प्रभेद पृथक रूप से उपयुक्त तरल माध्यमों में ऐसी अवस्थाओं के अधीन बनाए जाते हैं जिससे अधिकतम टास्किल उत्पादन सुनिश्चित हो जाए। इन संबंधनों की शुद्धता और भाविष्यगता के लिए चूहों में जांच की जाती है। विश्लेषित श्रेणी के फारमैसिटिकल आई. पी. की बोल की 0.5 प्रतिशत अंतिम सांद्रण में मिला दी जाती है और पारसाइड संबंध 37° सेटीसेड पर सब तक रखा जाता है जब तक कि उत्पाद अनुर्धर और निराविष न हो जाए। 10 प्रतिशत रसायन और 6.0 तक समायोजित का अन्तिम संकेन्द्रण प्राप्त करने के लिए आयोजित जल में प्रत्युमिनियम क्लोराइड का 20 प्रतिशत घोल मिला कर फार्मा-साइड प्रति संबंध (एनाक्स्वर) तैयार किया जाता है, प्रस्तावित भाविष्यग (सेटीसेड टाक्साइड) का पुनर्निर्माण तार्मिक सैकनाइन में इसके मूल प्रवणता के साथ में किया जाता है।

4. मानक—

(क) विवरण—यह पूर्ण रूप से कैपित किए जाने पर एक घ्वेत तरल पदार्थ है जिसमें मूल जीवाणु और मूर्छाग्रस्त टाक्साइड प्रत्यक्षित हो।

(ख) पहचान जब ग्रहणशील पशुधरा में प्रवेश क्षिप्त किया जाए तो यह सी 1 पर फिजिओस टाइप “क” और सी के विशुद्ध एपिमिनान और बैटा एन्टोटाक्सिन के उत्पादन को उद्योपित करता है और पी 1 सैटिकम और सी 1 ओएनी सैटिगस के टाक्सिन के विशुद्ध एन्टीटाक्सिक को भी उद्योपित करता है।

(ग) अनुर्वरता परीक्षण “जीवाणिक टोका” विषयक साधारण विनिर्माण में उल्लिखित अनुर्वरता की जांच के अनुसार है।

(घ) सुरक्षा परीक्षा—उत्पाद के 10 मि. लि. एस. सी. का टोका चार भंजों में से प्रत्येक को लगा दिया जाता है और सात दिनों तक इन पर जिसके दौरान ये पशु कोई स्थानीय या पद्धति संबंधी प्रतिक्रिया प्रकट नहीं करेंगे, निगरानी की जाती है।

(ङ) शक्ति परीक्षण—घाठ भेड़ों में से प्रत्येक को, 21 दिन के अन्तराल पर एस सी टीके की दो मात्रा की टोका दे दी जाती है और बसबे दिन द्वितीय सरोरण के पश्चात् उनका उक्त टोका में समाविष्ट

प्रत्येक एन्टीजन के विशुद्ध प्रतिभाविष (एन्टी) का प्राक्शन करने के लिए शरीर संकलन करने के लिए दिया जायेगा। सरोरणान्तराल में एप्योसन का 2 आई यू और सी 1 और सी 1 का फिजिओस बैटा एन्टी टाक्सीस और सैटिकम का 2.5 आई यू और सी 1 ओएनियाटिगस प्रति भाविष का 1 आई. यू. से कम नहीं होगा।

5. लेबल लगाना और भण्डारण—“जीवाणिक बैक्टीरियम” संबंधी साधारण विनिर्माण में लेबल लगाने और भण्डारण करने के संबंध में अधिकतम अपेक्षाओं का अनुपालन करेगा।

6. अवसान की तारीख बैक्टीरिया की शक्ति की समाप्ति की तारीख विनिर्माण की तारीख से छह मास के अधिक नहीं होगी।

रक्तवासी सैटिकमिया बैक्टीरियम-फिटकरी अभिक्रिया

1. पर्यायवाची पाश्चुरेला-मल्टोसीडा (यमिनोया मल्टोसीडा) बैक्टीरियम फिटकरी अभिक्रिया।

2. परिभाषा—यह बैक्टीरियम पांटेस फिटकरी से अभिक्रिया में पाश्चुरेला-मल्टोसीडा के उभ विभेद का कृत पालन है।

3. निर्माण :—प्रथम चरण में पाश्चुरेला मल्टोसीडा टाइप 1 को उष्ण शक्ति विभेद नुटिएन्ट्रेया 37° से. में पर बढ़ाया जाता है। शुद्ध वृद्धि को समुचित माध्यम में फौरमैलिन आई. पी. का घोल मिला कर दिया जाता है। (0.5 प्रतिशत) इसे 1 प्रतिशत का अन्तिम संकेन्द्रण देने के लिए पांटेसियम फिटकरी में अभिक्रिया किया जाता है।

4. मानक—

(क) विवरण—यह श्वेत निरन्धन है जिसमें मूल जीवाणु और फिटकरी अन्तर्विष्ट है।

(ख) पहचान : यह ग्रहणशील पशुधरा को पी मल्टोसीडा प्रतिरोधन के विशुद्ध संरक्षण प्रवाह करता है।

(ग) अनुर्वरता परीक्षण—“जीवाणुगत बैक्टीरियम” से संबंधी साधारण विनिर्माण के अधीन उल्लिखित अनुर्वरता के परीक्षण का अनुपालन करना है।

(घ) सुरक्षा परीक्षण—चार स्वस्थ शशकों को जिसमें प्रत्येक का वजन 1 से 1.5 कि. ग्रा. हो, 5 मि. लि. इस उराव से आवश्यक रूप से संरोपित किया जाता है। सात दिनों के अवलोकन की अवधि के दौरान उसके छोड़ी स्थानीय सूजन को छोड़कर और कोई प्रतिक्रिया नहीं होगी। बारी-बारी से दो शशक और छह चूहे लिए जा सकते हैं। चूहों के लिए डोज 0.5 मि. लि. रहेगा।

5. लेबल लगाना और भण्डारण—“जीवाणिक बैक्टीरियम”, विषयक साधारण विनिर्माण में यथा अधिकतम लेबल लगाने और भण्डारण की अपेक्षाओं का अनुपालन करेगा।

6. अवसान की तारीख—बैक्टीरिया की शक्ति के अवसान की तारीख उसके विनिर्माण की तारीख से छह मास में अधिक नहीं होगी।

(2) “(ख) जीवाणिक बैक्टीरियम—उत्पादन को लागू होने वाले उप-बन्ध” शीर्षक के अधीन,—

(क) पैरा 3 में प्रविष्टि (xi) के पश्चात् निम्नलिखित अन्त-स्थापित किया जाएगा, अर्थात्—

“(xii) चरण और मुख रोग टोका (निष्कृत)

(xiii) कैमाइन डेपटाइडिम—टोका (जीवित)”,

(ख) पैरा 4 के स्थान पर निम्नलिखित रखा जाएगा, अर्थात्—

“4. अभिलेख—बैक्टीरिया तैयार करने में प्रयोग किए गए जीवाणु का, बैच तैयार करने के लिए प्रयुक्त किये जाने से

पूर्व शुद्धता, सुरक्षा, अनुवर्तता और प्रतिजनन के लिए एक विशिष्ट जीवाणु की लागू साधारण स्वीकृति परीक्षण द्वारा, परीक्षण किया जाएगा। जब तक कि एक विशिष्ट जीवाणु के लिए अन्यथा विहित न किया जाए, यह स्टाक बीज जीवाणु से पांच संक्रमण से अधिक दूरस्थ नहीं होगा। स्टाक बीज जीवाणु का सीधे लाट पद्धति द्वारा विनिर्दिष्ट संक्रमण-स्तर पर रखा जाएगा और उसका परीक्षण जीवाणुशुद्ध, कृकद्रव्य (माइकोप्लाज्मा) और शिरावाह्य, जीवाणु के संवर्णन के लिए किया जाएगा। अनुसृष्टिधारी द्वारा रखे जाने के लिए अपेक्षित स्थायी अभिलेख में, ऐसे बीज जीवाणु के मूल (उत्पत्ति) गुण और लक्षण संबंधी अभिलेख भी सम्मिलित हैं जिनमें बैक्टीरिया तैयार की जाती है।” ;

(ग) पैरा 7 में, उपपैरा (i.) के स्थान पर निम्नलिखित अन्तर्स्थापित किया जाएगा, अर्थात्—

“(3) कुक्कुट को जिससे बैक्टीरिया उत्पादन के लिए भंडे और शीत प्राप्त किए जाते हैं, इस रीति में प्राकामित किया जाए कि वे बाह्य संक्रमण से मुक्त रखे जाएं और उनकी साधारण जीवाणुशुद्ध कृकद्रव्य और जीवाणु संक्रमण के लिए वायुमार्ग अन्तर्स्थापित पर जाव का जाए। परीक्षा और उनके परिणामों के अभिलेख विनिर्माण द्वारा रख जाएंगे” ;

(ब) “कुक्कुट चेंचक बैक्टीरिया कुक्कुट भ्रूणविभाग (जीविन)” विनिबन्ध के अधीन पैरा 3 में “बारह से तेरह दिन के भ्रूणों का मिली (स्टाक बीज विभाग) में संक्रमित किया जाता है,” शब्दों के स्थान पर निम्नलिखित रखे जाएंगे, अर्थात्—

“बारह से तेरह दिन के भ्रूणों को कुक्कुट चेंचक भ्रूणकृत कुक्कुट भ्रूण के संक्रमित मिलियाँ (बीज जीवाणु) के तिलस्वन की समुचित मनुष्य से अन्तर्स्थापित किया जाता है —” ;

(घ) “कुक्कुट चेंचक बैक्टीरिया कुक्कुट कृकद्रव्य-विभाग (जीविन)” विनिबन्ध के अन्तर्गत पैरा 4 के उपपैरा (ग) में, द्वितीय पैरा के पश्चात् निम्नलिखित अन्तर्स्थापित किया जाएगा, अर्थात्—

“परीक्षण-अधीन बैक्टीरिया को फील्ड मात्रा के दस गुणों का 0.2 मि.लि. से तीन परख पखेंदों को अन्तर्नाल द्वारा अन्तर्स्थापित किया जाए। यह समूह यह उपदेशित करने का कार्य करता है कि उत्पाद सवामक कारिगाटेकियाइटिम विभाग से और इसी प्रकार के अन्य रोगों से मुक्त है कि नहीं” ;

(च) “रानीखेत-रोग-बैक्टीरिया (जीविन)” विनिबन्ध के अधीन, पैरा 4, उपपैरा (ग) के तीसरे पैरा में बिनाई पड़ने वाले “प्रति-शय” शब्द का शेष किया जाएगा और उनके तीसरे पैरा के पश्चात् निम्नलिखित अन्तर्स्थापित किया जाएगा अर्थात्—

“तीन परख पखेंदों को परख की जाने वाली बैक्टीरिया 0.2 मि.लि. अन्तर्नालिका द्वारा अन्तर्स्थापित किया जाएगा यह समूह यह उपदेशित करता है कि उत्पाद प्रतिशय के विभाग से और उसी प्रकार के रोग से मुक्त है।” ;

(छ) “रानीखेत रोग बैक्टीरिया एक स्ट्रेन (जीविन)” विनिबन्ध के अधीन पैरा 4 के उपपैरा (ग) में “0.1” श्रंकों के स्थान पर “1.0” श्रंक रखे जाएंगे ;

(ज) निम्नलिखित विनिबन्ध और प्रविष्टिया अन्तर् में अन्तर्स्थापित की जाएगी, अर्थात्—

“पाव और मुख-रोग बैक्टीरिया (निष्कृत)

1. परीक्षा—निष्कृत उसक संबंधी एक या बहु-संयोजक पाव और मुख रोग बैक्टीरिया।

2. परिभाषा—पाव और मुख रोग बैक्टीरिया एक तरल उत्पाद या धोक है जिसमें एक या अधिक किस्म के पाव मुख रोग विभाग होते हैं जिन्हें इस प्रकार निष्कृत कर दिया जाता है कि इसका प्रतिरक्षाजनी गुण बना हुआ रहता है। इसमें गुणवर्धक भी सम्मिलित होता है। उस बैक्टीरिया को, प्रयोग किए गए विभागों को किस्मों के आधार पर एक संयोजक द्विसंयोजक त्रिसंयोजक या बहुसंयोजक भी कहा जाता है।

3. विनिर्माण—विभाग को उपयुक्त कोशिका कल्चर में संवर्धित किया जाता है। कोशिका कल्चर को विभाग के किमी समुचित संगरोप के माध्यम से संवर्धित किया जाता है और विभाग के गुणन के लिए उपयुक्त तापमान पर उष्मायन किया जाता है। विभाग कार्य परिणामित होता है और कोशिकाय मनुष्यों का निष्पन्न के द्वारा हटाया जाता है। समुचित एजेंट जैसे फेनेलिट्रिडाइड धोक या किसी ऐंजीरिशन मिश्र द्वारा निष्कृतिकरण पूरा किया जाता है। इनका गुणवर्धक अनुमितेयन हाइड्रोक्साइड और/या सयोनिन हो सकता है। निष्कृत जब बैक्टीरिया की दशा में, प्रतिजन को अन्तर्गहन द्वारा +4 से पर गाढ़ा किया जाता है। बहु-संयोजक-बैक्टीरिया तैयार करने के लिए एक संयोजक प्रतिजन को अन्तिम मिश्रण देने के लिए समुचित मात्राओं में मिश्रित किया जाता है जिससे कि अन्तिम मिश्रण प्राप्त हो सके जो सुविन बैक्टीरिया है।

4. मानक—

(क) विवरण—संवर्धित किए गए अनुमितेयन हाइड्रोक्साइड जैक-बैक्टीरिया अन्तिमो का मूल छानकर पाईरनों डिरी पर स्थिर हो जाता है।

(ख) पड़ान, यह पशुओं की विभाग की समजात दाह्य/व दाह्य के कारण पशुओं के पाव और मुख रोग के विपन्न रखा करता है।

(ग) अनुवर्तता परीक्षण—इसमें “वैधागिक-बैक्टीरिया संबंधी साधारण विनिबन्ध के अधीन विहित किए गए अनुवर्तता-परीक्षणों का अनुपालन किया जाएगा।

(घ) सुरक्षा परीक्षण—चार से, अनुवर्त-रूप न छोड़ा गए चूहों को एक संयोजक बैक्टीरिया को 4 विभिन्न बोतलों से बैक्टीरिया की 0.1 मि.लि. से अन्तरपेयीय रूप में संरोपित किया जाता है और 10 दिनों के लिए प्रेक्षणधीन रखा जाता है सभी संरोपित चूहे सामान्य रूप से रहेंगे (यह परीक्षण अब ऐसे बैक्टीरियों के लिए उपयुक्त है जिन्हें बी.एन.के. 21 कोशिका संवर्धन में तैयार किया जाता है)। 4-5 मप्ताह की आयु के पांच चूहों को एक संयोजक बैक्टीरिया के 0.5 मि.लि. की वैरोम्पतर टीका दी जाती है और 10 दिनों तक संप्रेक्षणधीन रखा जाता है। सभी चूहे सामान्य रहेंगे। दो वयस्क गिनोपिंगों को एक संयोजक बैक्टीरिया की दो मि.ली. पेयमन्तर टीका दी जाती है और पांच दिनों तक संप्रेक्षणधीन रखा जाता है। सभी गिनोपिंग सामान्य रहेंगे। तीन संवेदनशील पशुओं को उनके जिह्वा में विभिन्न जगहों पर एक संयोजक बैक्टीरिया की टीका दी जाती है और उनका 10 दिनों तक संप्रेक्षण लिया जाता है। पाद और मुख रोग का कोई विभन्न प्रकट नहीं होगा।

(ङ) शक्ति परीक्षण—एक संयोजक एक एम बी बैक्टीरिया के प्रत्येक वेच का परीक्षण 15 मास से कम की आयु के संवेदनशील पशुओं पर किया जाएगा। पी जी 50 का अवधारण अवश्य किया जाएगा और बैक्टीरिया परीक्षण पूरा करती है, यदि 3 या उससे अधिक मूष्य का पी जी 50 का अनुपालन किया जाता है। इसका एक अनुकल्पिक तरीका भी स्वीकार किया गया है जिसमें 10 पशुओं को पराधरमक रूप से उनके गन्धल में बैक्टीरिया की न्यूनतम टीका लगाया जाए। 1/21 दिनों के पश्चात् बैक्टीरिया दिए गए पशुओं को बाह्य निर्वर्णों के साथ उनके जिह्वा पर ऐसी बीज से किया जाता है जिनमें समजात पशु-जिह्वा विभाग का 10,000 आई बी 50 अन्तर्विष्ट हो। पशुओं का परीक्षण 7 दिन की अवधि के लिए किया जाता है। वह बैक्टीरिया कम से कम 70 प्रतिशत सुरक्षा प्रदान करती है जैसा कि साधारणीकृत धाव के न होने पर अवधारित हो।

## 5. लेबल लगाना :

साधारण विनिबन्ध में कथित ओषाधों के अनुसार इस पर लेबल लगाया जायेगा। उस पर अतिरिक्त प्रवेष्टा यह है कि बक्से पर लेबल में उन विषाणु टाइपों का उल्लेख होगा। जिनका प्रयोग इसकी विनिमित में किया गया है।

## 6. भंडारकरण :

इसकी सुरक्षा रीशनी से की जानी चाहिये और भंडारण 2° सेंटीग्रेड से 8° सेंटीग्रेड पर किया जाना चाहिये। इन शर्तों के अधीन रखे जाने पर यह अनुमान किया जाता है कि वह अपनी शक्ति कम से कम छह माह तक बनाये रख सकेगी। अन्युमिनियम हाइड्रोक्साइड बैक्मिन की हिमीकरण से बचाना आवश्यक है।

## केनाइन यकृत शोध बैक्मिन (जीवित) :

1. पर्याय : संक्रमक केनाइन यकृत शोध बैक्मिन (जीवित) केनाइन यकृत शोध कोशिका संवर्धन बैक्मिन।

2. परिभाषा : केनाइन यकृत शोध बैक्मिन (जीवित) हिम-शुद्धित उत्तक संवर्धन संबंधी तरल विनिमित है जिसमें केनाइन यकृत शोध विषाणु सेवित कोशिका संवर्धन अन्तर्निहित है।

3. विनिमित केनाइन यकृत शोध बैक्मिन विषाणु से जिधमें कोशिका संवर्धन हो, तैयार किया जायेगा।

केवल ऐसे स्टॉक सीड विषाणु का, जिसे शुद्ध, सुरक्षित और प्रतिरक्षा जनत्व प्राप्त सिद्ध किया गया है, बैक्मिन की विनिमित में उपयोग किया जायेगा।

प्रतिरक्षाजनत्व परीक्षण—स्टॉक सीड विषाणु का प्रत्येक माट के प्रतिरक्षा जनत्व के लिये निम्नलिखित रूप में परीक्षण किया जायेगा :—

8—14 सप्ताह आयु के केनाइन हेपेटोइटिस के सुप्रभाध्य 13 कुत्तों का प्रयोग परीक्षण में किया जायेगा। 10 बैक्मिन द्वारा और 3 नियंत्रण से। इन पशुओं में रक्त नमूने प्राप्त किये जायेंगे और केनाइन-हेपेटोइटिस विषाणु के सिद्ध प्रतिरैषिक की उपस्थिति के लिये पृथक सीरम नमूना का परीक्षण किया जायेगा। दस कुत्तों को विषाणु के पूर्व निर्धारित मात्रा के अन्तःस्वरूप से टीका लगाया जायेगा और शेष 3 कुत्तों को बैक्मिनोकरण सहित नियंत्रण के रूप में रखा जायेगा। शोध आकलन उपयुक्त सेन कलशर पद्धतियों में विषाणु तत्त्वानुपापन के आधार पर किया जायेगा। बैक्मिनकृत और नियंत्रण-युक्त कुत्तों में से प्रत्येक को उच्च संक्रामक केनाइन यकृत शोध विषाणु से अन्तःनाडी रूप में दी जायेगी और 14 दिन तक नित्य अवलोकन किया जायेगा। तीन नियंत्रणों में कम से कम दो की मृत्यु हो जायेगी और शेष जीवित केनाइन यकृत शोध के क्लिनिकल (लक्षण) दिखाई देंगे। 10 बैक्मिनकृत कुत्तों में से 9 कुत्ते जीवित रहेंगे और प्रेषण अवधि के दौरान किसी संक्रामक केनाइन यकृत शोध के लक्षण प्रकट नहीं करेंगे।

स्टॉक सीड विषाणु का पांच वर्षों में एक बार परीक्षण किया जायेगा यदि विहित की गई मानक स्थितियों के अधीन सुरक्षित रखे जायें।

स्टॉक सीड विषाणु की उपयुक्त उत्तक संवर्धन प्रणाली पर संरोपित किया जा सकता है, और 5 से 7 दिनों तक उसे ऊष्मायित किया जा सकता है।

उत्तक संवर्धन द्रव को तब विषाणु अन्तर्वस्तु के लिये कोशिका संवर्धन प्रणाली में कार्य परिणामित और तत्त्वानुपापित किया जाता है। समुचित अनुकरण और पूर्णिक के पश्चात् वस्तु को —20 सेंटीग्रेड पर भंडार किया जाता है जब तक कि वह जमकर शुष्क न हो जाये। प्रत्येक बैक्मिन डोज (खुराक) में 10<sup>3.5</sup> टी सी आई डी 50 से अन्यून डोज अन्तर्विष्ट होगा।

## 4. मानक :

(क) विवरण : शुष्क उत्पाद गुलाबीभूम जैसी वस्तु होगा जो जब में तुरन्त घुल जाने वाला होगा। पुनर्गठित बैक्मिन गुलाबी रंग का द्रव है।

(ख) पड़वान : यह कुत्ता मूषर, फरेट के गुर्बों में एक स्तरों में स्थायिक कोशिका विकृत प्रभाव उत्पन्न करती है। इसे विशेष विनिदिष्ट प्रतिसीरम द्वारा निष्क्रिय किया जा सकता है। रक्तों में संरोपित करने पर विनिदिष्ट निष्प्रभावी प्रति रक्षियों के विकारों को समुचित सीरम संबंधी परीक्षण के द्वारा प्रदर्शित किया जा सकता है। 9

(ग) वाष्प अन्तर्वस्तु : तैयार उत्पादों में वाष्प अन्तर्वस्तु 1.0 प्रतिशत से अधिक नहीं होगी।

(घ) अनुर्वरता परीक्षण—“विषाणु बैक्मिन” के संबंध में साधारण विनिबन्ध के अन्तर्गत वर्णित रूप में अनुर्वरता के परीक्षण अनुपालन किया जायेगा।

(ङ) सुरक्षा परीक्षण : मूषक सुरक्षा परीक्षण—लेबल में दी गई मिकारिण के अनुसार प्रयोग के लिये तैयार किये गये बैक्मिन का परीक्षण किया जायेगा। आठ मूषकों को अन्तःपरिष्कीय ढंग से 0.03 मि.मी. संरोपित किया जा सकेगा और 8 मूषकों को 0.5 मि.ली. से अन्तःस्पर्शदर्शी संरोपण किया जायेगा। दोनों समूहों का सान दिन के लिये प्रेषण किया जायेगा। यदि प्रेषण की अवधि के दौरान दोनों समूहों के मूषकों में से दो या अधिक मूषकों में प्रतिकूल प्रतिक्रिया, जिसे इस उत्पाद से कारित माना जा सकता है, उद्भूत हो तो इस (बैच) को अस्वीकार्य माना जायेगा।

पड़वान सुरक्षा परीक्षण :—8—14 सप्ताह की आयु के दो ग्रहणशील पड़वानशायकों में से प्रत्येक को अनुर्वर तनुकारी से पुर्णित बैच में से 10 बैक्मिनोडोज डोज (खुराक) के समतुल्य बैक्मिन से अन्तःक्षिप्त किया जायेगा और लेबल पर दिये गये निवेश की रीति से इसका प्रयोग किया जायेगा तथा 21 दिन तक प्रेषण में रखा जायेगा। कोई पड़वान-शायक प्रेषण-अवधि के दौरान कोई प्रतिकूल प्रतिक्रिया प्रदर्शित नहीं करेगा।

(च) शक्ति परीक्षण. विषाणु तत्त्वानुमान—तैयार उत्पाद के नमूनों को उपयुक्त कोशिका संवर्धन प्रणाली में विषाणु अनुपाप के लिये परीक्षित किया जायेगा। इस बैच में 10<sup>3.5</sup> टी सी आई डी 50 से अन्यून डोज वाला विषाणु अनुपाप होगा।

पड़वान में शक्ति परीक्षण : 8—14 सप्ताह की आयु के दो स्वस्थ ग्रहणशील पड़वानों को एक बैक्मिन डोज से अवस्थकरूप से अन्तःक्षिप्त किया जायेगा। बैक्मिन टीका दिये जाने के 14 दिन पश्चात् दोनों पड़वानों में से विनिदिष्ट निष्क्रिय प्रतिसीरम संबंधी परीक्षण प्रदर्शनीय होंगे।

5. लेबल लगाना—“विषाणु बैक्मिन” संबंधी साधारण विनिबन्ध में अधिकवित रीति से लेबल लगाने की ओषा के अनुरूप होगा।

6. भंडारकरण :—शुष्क उत्पादों 20° या उससे कम तापमान पर भण्डार किया जायेगा। इस बैक्मिन के रेफ्रिजरेटर के प्रशीतक प्रकोष्ठ में प्रायः 6 सप्ताह तक अपनी शक्ति कायम रखने की उम्मीद की जाती है (लगभग तापमान 80° से.)।

## बाख प्लेग वैक्सिन

1. परिभाषा : अतः प्लेग वैक्सिन मशामित कुम्कुट धूप से तैयार किया गया स्पान्तरिन जीवित विषाणु का निलम्बन है।

2. विनिमित : सैलमोनेला उष्णकृत धूपों से ताजे उर्वर मुर्गी के घड़े लेकर इन्क्यूबेटर में उष्मायित किये जाते हैं। 9 दिन पुराने धूप

को निर्मित विषाणु के उपयुक्त अनुकरण (100 का 1) का 0.2 मि. लि. का अस्तक्षेपण सी.ए.एम. पर किया जायेगा और संरोपण के पश्चात् 5 दिनों के लिये  $37^{\circ}$  से. ग्रेड पर उष्मायित किया जायेगा। संरोपण के पश्चात् तीसरे, चौथे और पाँचवें दिन मृत भ्रूण परिणामित होते हैं। भ्रूण (जिनमें सिर और टांगें नहीं होती) जो साफ सरलिकृत और झिल्लीकृत होते हैं, को एकत्र कर एक सम्मिश्रित में होमोजिनाइज किया जाता है, 0.5 मि. लि. की मात्रा के एम्बुल में रखा जाता है और प्रशोधन शुष्क कर दिया जाता है।

3. मानक :

(क) विवरण : हृत्का, भुरा मापमान।

(ख) पहचान : यह उत्पाद बतख को बतख-भ्रूण के विरुद्ध सुरक्षित रखता है।

(ग) सुरक्षा परीक्षण : चार 8 से 12 सप्ताह की आयु की स्वस्थ बगछों को, जिनका वजन 600 ग्राम से अन्यून है  $10^{-1}$  बैक्सिन तनुकरण के 1 मि. लि. से अवश्वक रूप से संरोपित किया जाता है और 14 दिनों तक उन्हें प्रेक्षण में रखा जाता है। प्रेक्षण की अवधि के दौरान, ये बगछें किसी प्रतिक्रिया का प्रदर्शन नहीं करेंगी।

(घ) अनुर्वरता परीक्षण : "विषाणविक बैक्सिन" के संबंध में साधारण विनिबन्ध में अनुर्वरता के संबंध में दिये गये विवरण का पालन किया जाता जाहिये।

(ङ) शक्ति परीक्षण : चार 8 से 12 सप्ताह की आयु की ग्रहणशील बतखों में से प्रत्येक को, जिनका वजन 600 ग्राम से अन्यून हो, बैक्सिन के  $10^{-8}$  तनुकरण के 1 मि. लि. से अवश्वक रूप से संरोपित किया जाता है। बैक्सिन की एक खुराक में न्यूनतम विषाणु अन्तर्वस्तु में  $10^{9.5}$  ई आई डी 50 हो। 14 दिन पश्चात् इन बतखों में से प्रत्येक को उम्र बतख प्लेग विषाणु 1000 डी ई आई डी 50 तनुकरण के 1 मि. लि. के अवश्वक रूप से सुनीतीकृत किया जाता है। साथ ही 8-12 सप्ताह की आयु वाली 2 असुरक्षित नन्ही बतखों को उम्र बतख प्लेग विषाणु से  $10^{-8}$  तनुकरण के 1 मि. लि. से अवश्वक रूप से सुनीतीकृत किया गया असुरक्षित बतख में बतख प्लेग के लक्षण दिखाई पड़ेंगे और यह 10 दिन के भीतर मर जाएगी, जबकि सुरक्षित बतख प्रेक्षण के 14 दिनों के दौरान सामान्य रहेंगी।

4. लेखन खगाना:—"विषाणु बैक्सिन" संबंधी साधारण विनिबन्ध में अधिकथित लेबल लगाने की अपेक्षा का अनुपालन किया जाएगा।

5. भण्डारण : बैक्सिन को  $-15^{\circ}$  से  $-20^{\circ}$  से. ग्रे. पर भण्डारित किए जाने पर एक वर्ष तक अपनी शक्ति बनाए रखेगा और यदि प्रशोधन के प्रकोष्ठ में  $-50^{\circ}$  से. ग्रे. पर रखा जाएगा तो लगभग तीन मास तक अपनी शक्ति बनाए रखेगा।

पक्षी मस्तिष्क सुषुम्नाशोष विषाणु बैक्सिन (जीवित)

1. लक्षण : पक्षी मस्तिष्कसुषुम्नाशोष बैक्सिन प्रशोधित शुष्क होगा।
2. परिष्ठाता : विषाणुधारित उम्र और भ्रूणीकृत मुर्गी अंडे से तरबूत निरंधन।
3. विनिमिति : स्टार्क सीड विषाणु का उपयोग जिसे विशुद्ध अर्हानिकर और प्रतिरक्षाजनी सिद्ध कर लिया गया हो, बैक्सिन तैयार करने में किया जाएगा।

(1) स्टार्क सीड विषाणु को प्रत्येक लाट का परीक्षण उसकी रोगजनकता प्राक्ने के लिए, चिकन-भ्रूण-संरोपण-परीक्षण द्वारा किया जाएगा।

(क) उत्पाद में बैक्सिन विषाणु को निष्प्रभावी करने के लिए सीड लाट के एक डोज को अमुवर उष्मा-निष्कृत विशिष्ट प्रति सीरम के 9 आयतकों में मिला दिया जाएगा।

(ख) निष्प्रभावीकरण के पश्चात् सीरम बैक्सिन मिक्सचर के बोल को कम से कम 20 पूर्णतः ग्रहणशील कुक्कुट भ्रूणों में से प्रत्येक को संरोपित किया जाएगा (उनका लम) का 0.1 मि. ली. 9-11 दिन की आयु वाले भ्रूण में और 0.1 मि. लि. एलान्टोडक थैली में संरोपित किया जाएगा।

(ग) अंडे का सात दिनों के लिए मोम-परीक्षण किया जाएगा। प्रथम 24 घंटे के अन्दर मृत्यु घटित होने वाले को निकाल दिया जाएगा, किन्तु कम से कम 18 जीवनक्षम भ्रूण मान्य परीक्षण के लिए संरोपणोत्तर काल में 24 घंटे तक जीवित रहेंगे। सभी भ्रूण और भ्रूणों से प्राप्त सी.ए.एम. जो पहले दिन के पश्चात् ही मर जाते हैं, उनका परीक्षण किया जाएगा।

(घ) यदि ऐसी मृत्यु या अपमानान्यता, जिसे संरोप से कारित समझा जाए, घटित होता है, तो सीड-लाट असंतोषप्रव है।

(2) प्रतिरक्षाजन परीक्षण : पक्षी मस्तिष्कसुषुम्नाशोष के प्रति ग्रहणशील कुक्कुट शावक सभी एक ही आयु (8 सप्ताह) के होंगे का प्रयोग किया जाएगा। 20 कुक्कुट शावकों को विहित मार्ग में, विषाणु को फील्ड डोज संरोपित किया जाएगा। समान आयु के दस प्रतिरिक्त कुक्कुट शावक और कुक्कुट समूह को बैक्सिन रहित नियंत्रण के रूप में माना जाएगा।

कम से कम 21 दिन अन्तर टीका काल में नियंत्रकों (कुक्कुट) और टीका कृतों (कुक्कुटों) की उम्र पक्षी-मस्तिष्कसुषुम्नाशोष-विषाणु से अन्न-मस्तिष्कीय रूप में सुनीतीकृत किया जाएगा और प्रत्येक को 21 दिनों तक प्रेक्षण में रखा जाएगा। कम से कम 80 प्रतिशत नियंत्रकों में पक्षी-मस्तिष्कसुषुम्नाशोष के लक्षण दृष्टिगोचर होंगे या वे मर जाएंगे। 20 टीकाकृत कुक्कुट शावकों में से कम से कम 10 टीकाकृत कुक्कुट शावकों में स्टार्क सीड विषाणु के संतोषप्रद होने के लिए, प्रेक्षण की अवधि के दौरान क्लिनिकल, पक्षी मस्तिष्क सुषुम्नाशोष से मुक्त रहेंगे।

4. मानक :

(क) विवरण : भुरा खेत पपड़ी ओ तनुकारी में सहज ही घुल जाए।

(ख) पहचान : कम से कम पाँच छह दिन की आयु के भ्रूणीकृत अंडों को (ऐसी भूमियों के जिनका पक्षी से संक्रामक होने का कोई पूर्ववृत्त न हो) अतनुकृत बैक्सिन के 0.1 मि. ली. से पीतक कोष में संरोपित किया जाएगा और इन्क्यूबेटर में रखा जाएगा और सब ब्रुडर अंडयन कक्ष में स्थानान्तरित कर दिया जाएगा जहाँ उन्हें अंडे सेने दिया जाता है। अंडजोत्पन्न कुक्कुट शावकों को सात दिनों तक बैठने दिया जाएगा। अण्डजोत्पन्न कुक्कुट शावकों का 50 प्रतिशत इस अवधि के अन्त से विशिष्ट लक्षण (रुख टांगे, टांग पक्षाघात, कंपन हत्यादि) प्रकट करेंगे।

(ग) वाष्प अन्तर्वस्तु : 1.0 प्रतिशत से अधिक नहीं होगा।

(घ) अनुर्वरता परीक्षण : "विषाणु" बैक्सिन विषयक साधारण विनिबन्ध के अधीन वर्णित अनुर्वरता संबंधी परीक्षण का अनुपालन करेंगे।

(ङ) सुरक्षा परीक्षण : कम से कम 25 पक्षी मस्तिष्क-सुषुम्नाशोषग्रहणशील पक्षियों (6-10 सप्ताह की आयु के) को स्वस्त मार्ग से 10 फील्ड डोज सेटीकाकृत किया जाएगा और 21 दिनों तक प्रतिदिन प्रेक्षाधीन रखा जाएगा। यदि प्रेक्षण की अवधि के दौरान बैक्सिन में आरोग्य प्रतिकूल प्रतिक्रियाएं घटित हों तो यह बैच असंतोषप्रव है।

## (च) वैक्सन परीक्षण :

- (1) वैक्सन की विषाणु अंतर्बन्धु के लिए अनुमापित किया जाएगा। कोई वैष निर्मुक्त किए जाने के योग्य हो उसके लिए उसे ईआई डी 50 प्रति डोज पर कम से कम  $10^{3.5}$  का विषाणु अनुमापन लेना होगा।
- (2) कम से कम 10 ग्रहणशील कुक्कुट शावकों को न्यस्त मार्ग से वैक्सन के फील्ड डोज द्वारा टीकाकृत किया जाएगा और उसी वैष और स्रोत के 10 कुक्कुट शावकों को टीकाकृत नियंत्रक के रूप में रखा जाएगा।

कम से कम 21 दिन वैक्सन के पश्चात् दोनों समूहों को अस्तःमस्तिष्कीय रीति से उग्र पक्षी मस्तिष्कसुषुम्नाशील विषाणु से चुनौतीकृत किया जाएगा और 21 दिनों तक निर्य प्रेक्षणाधीन रखा जाएगा। 10 नियंत्रकों में से कम से कम 8 में पक्षी मस्तिष्कसुषुम्नाशील के पहचानने योग्य लक्षण या विशत-विकसित होंगे।

5. लेबल लगाना:—“विषाणु वैक्सन” में के साधारण विनिर्देश में अधिकथित रीति से लेबल लगाने की अपेक्षा का अनुपालन किया जाएगा।

## मैरेक के रोग का वैक्सन (जीवित)

1. लक्षण: टर्की वैक्सन का विसर्पिका विषाणु, एच. बी. टी. वैक्सन (जीवित)।
2. परिभाषा: मैरेक रोग वैक्सन कोशिकामुक्त द्रव, जिसमें जीवित विषाणु है, का निलंबन है।
3. (विनिमित्त): स्टाक सीड विषाणु का प्रयोग, जिसे शुद्ध, निरापद और पक्षी जातियों में प्रतिरक्षापन साबित किया जा चुका हो, वैक्सन उत्पाद के लिए सीड विषाणु प्रचार करने के लिए किया जाएगा।

(1) सुरक्षा परीक्षण: स्टाक सीड विषाणु, जैसा कि निम्नलिखित प्रक्रिया द्वारा अवधारित किया जाए, कुक्कुट शावकों के लिए अरोगजनक होगा।

कम से कम 25 कुक्कुट शावकों का प्रयोग त्रिनमे प्रत्येक की आयु एक दिन की होगी, दो समूहों में किया जाएगा। ये कुक्कुट शावक एक ही स्त्रोत के होंगे और इनका वैष मैरेक रोग के प्रति ग्रहणशील होगा उन्हें पृथक-पृथक समूहों में रखा जाएगा।

समूह 1—प्रत्येक कुक्कुट शावक; जितना वैक्सन के एक डोज (बुराक) में अंतर्विष्ट हो उसके 10 गुना जीवनक्षम विषाणु से अतर्पणीय मार्ग से अंतःक्षिप्त किए जाएंगे।

समूह 2—नियंत्रकों के रूप में कार्य करेंगे, प्रत्येक समूह में कम से कम 20 कुक्कुट शावक संक्षेपण के पश्चात् चार दिन जीवित रहेंगे। ऐसे सभी कुक्कुट शावकों को, जिनकी मृत्यु हो जाती है, शव परीक्षा की जाएगी और मैरेक रोग के विशिष्टों और मृत्यु के कारणों की जांच की जाएगी। परीक्षण का निर्णय निम्नलिखित के अनुसार किया जाएगा:—

120 दिन की आयु प्राप्त होने पर दोनों समूहों के अवशिष्ट कुक्कुट शावकों का वजन किया जाएगा, और उन्हें मार कर उनकी परीक्षा की जाएगी। इन दो समूहों में से प्रत्येक समूह के यदि कम से कम 15 कुक्कुट शावक 120 दिन की अवधि तक जीवित नहीं रह जाएं या यदि दोनों समूहों में किसी एक भी कुक्कुट शावक की शवपरीक्षा

की जाने पर मैरेक रोग का मोर विखत हो अथवा यदि 120 दिन की अवधि के अन्त में समूह 1 के जीवित महत्वपूर्ण रूप से (भाकड़ों में) घिर हो, तो स्टाक सीड विषाणु के ग्राट असंतोषप्रव है।

2. शुद्धता परीक्षण. कुक्कुट शावकों में किया जाएगा और टर्की-विकपन विषाणु के विशिष्ट विशदों में भिन्न किसी विशद का प्रमाण नहीं लिया जाएगा।

3. प्रतिरक्षाजनक परीक्षण:—माठ दिन की आयु के ग्रहणशील कुक्कुट शावकों का प्रयोग किया जाता है। इनमें से तीस कुक्कुट शावकों को ऐसे डोज में जो अंतिम वैक्सन के फील्ड डोज के बराबर हों, सीड विषाणु से संरोपित किया जाएगा और 14-21 दिन के पश्चात् उग्र मैरेक रोग-विषाणु से अंतःउदरीय मार्ग से अन्य 30 वैक्सन रहित नियंत्रक कुक्कुट शावकों के साथ-साथ चुनौतीकृत किया जाएगा। प्रेक्षण अवधि के अंत में जब कुक्कुट शावक 20 सप्ताह की आयु के हो जाएं, तब ओवनि कुक्कुट शावकों का मैरेक रोग के विशद प्रतिरक्षक की उपस्थिति का पता करने की दृष्टि से सौरभ परीक्षण और मैरेक रोग के विशदों का सरणोत्तर शव-परीक्षण किया जाएगा।

किसी भी मृत पक्षी का पूर्ण परीक्षण किया जाएगा और मृत्यु के कारण को शवपरीक्षा/हिस्टोपैथोलॉजिकल परीक्षा द्वारा अभिनिश्चित किया जाएगा। सभी जीवित बचने वाले पक्षियों को मार दिया जाता है और उनकी शवपरीक्षा की जाती है। रक्षा इन्डेक्स (पी 1) का अवधारण निम्नलिखित प्रक्रिया द्वारा किया जाएगा:—

एम डी विशद की संख्या  $\times 100$

$$1. \text{ एम डी} = \frac{\text{एम डी विशद की संख्या} \times \text{अतिजीविता की संख्या}}{(\text{प्रभावी संख्या})}$$

नियंत्रकों में प्रतिशत एम डी—टीकाकृत में प्रतिशत एम डी  $\times 100$

$$2. \text{ पी 1} = \frac{\text{नियंत्रकों में प्रतिशत एम डी}}{\text{टीकाकृत में प्रतिशत एम डी}}$$

मास्टर सीड विषाणु में कम से कम अस्सी प्रतिशत या पी 1 होना चाहिए।

नियंत्रक समूह में से कुक्कुट शावकों के 80 प्रतिशत निश्चय ही विशेष प्रकार से बीमार हो जायेंगे। यदि 80 प्रतिशत से अधिक वैक्सन कृत कुक्कुट शावकों में कोई लक्षण या मैरेक रोग के लक्षण प्रकट नहीं होने लगे, तो सीड विषाणु को पर्याप्त रूप से प्रभावशाली माना जाता है और वैक्सन उत्पादन के लिए उसका प्रयोग किया जायेगा।

सीड विषाणु को बन्धु ध्रुव तंतुशेरेक कोश कोशिका कलश, कुक्कुट ध्रुव तंतुशेरेक, या किसी अन्य समुचित कोशिका संघर्जन में (विशिष्ट) रोगजनक निर्मुक्त (एस.पी.एफ. समूह) में संचारित किया जाता है और जब उच्चतम संक्रमण स्तर प्राप्त हो जाए तो कोशिका एकाणुक स्तर की निम्नलिखित संघटकों वाले प्रशीतन तंतुशेरेकों में मिलित कर दिया जाता है।

एस.पी.जी.ए. स्थायीकारक:—

0.218 एम. सुक्रोज

0.0038 एम. मोनोसोडियम फास्फेट

0.0072 एम. डाईपोटेसियम फास्फेट

एम. मोनोसोडियम ग्लूटामेट 0.0049 एम.

1 प्रतिशत बोव. हत एल्यूमिन (प्रभाजन)

0.25 प्रतिशत ई.डी.टी.ए. (सिज निष्प. हत द्वारा अनुप्रेषित और  $10^\circ$  से.सी. पर संचारित (विषाणु की 2 मिनट के पराश्रयण द्वारा

(प्रति 30 सेकण्ड के पश्चात् हस्तक्षेप करने हुए) 100 एम ए पर कोशिका से निर्मुक्त किया जाता है और 60' सें.मी. पर अधिमान्य स्वतः प्रशीतन शुष्कन में सुविधाजनक आधुनिक हिमशुष्कित किया जाता है। प्रतिएम्प्यूल वायुल डोज को हिम शुष्कित उत्पाद का तत्स्थाने एकागुण स्तरीय कोशिका में प्लेग कारक एककों (पी.एफ.यू.) के निबन्धनों के अनुसार अनुमानित करने के पश्चात् आकलित किया जायेगा।

#### 4. मानक :—

(क) विवरण :—कोशिका निर्मुक्त हिमशुष्क एच.बी.टी. बैक्टीरिया का रंग एक स्वरूप में भरा दिखाई पड़ता है और विनिश्चित तनुता में सहज ही घुल जाने वाला है।

(ख) पहुँचान :—समुचित कोशिका संवर्धन पद्धति में संरोपित की जाने पर यह बैक्टीरिया टर्की की विसपिका के विषाणु की क्रिम का कोशिका विकृति की विशिष्ट प्रति सीरम कोशिका विकृति प्रभाव को निष्क्रिय कर देगी।

(ग) आर्द्रता अन्तर्वस्तु आर्द्रता :—अन्तर्वस्तु एक प्रतिशत से अधिक नहीं होगी।

(घ) अनुर्वरता परीक्षण :—“विषाणु बैक्टीरिया” साधारण बिनबिंध में विहित किए गए परीक्षण का अनुपालन करेगा।

(ङ) सुरक्षा परीक्षण :—कम से कम 25 कुक्कुट शावकों को जिनकी आयु एक दिन की हो, अव्यक्त मार्ग से बैक्टीरिया के फील्ड डोज के 10 गुने से अन्तःक्षेप किया जाएगा। ऐसे कुक्कुट शावकों का 21 दिन तक प्रत्येक दिन प्रेक्षण किया जाएगा। इस अवधि के दौरान मरने वाले कुक्कुट शावकों की परीक्षा की जाएगी। मृत्यु का कारण निर्धारित किया जाएगा और परिणाम को निम्नलिखित रूप में अभिलिखित किया जाएगा :—

(i) यदि कम से कम 20 कुक्कुट शावक भी प्रेक्षण अवधि तक जीवित नहीं रहते, तब यह परीक्षण अनिवार्य होगा।

(ii) यदि किसी रोग के विषय और मृत्यु के कारण सीधे बैक्टीरिया के फलस्वरूप हों तो बैक्टीरिया असम्तोषप्रद है।

(च) शक्ति परीक्षण :—नमूने का अनुपालन कोशिका संवर्धन पद्धति में किया जाएगा। एक संतोषप्रद बैच में कम से कम 1500 प्लेग फॉर्मिंग यूनिट्स (पी.एफ.यू.) प्रति होज निर्मुक्त किए जाने पर अवसान कालावधि के अन्त तक बना रहेगा।

5. लेबल लगाना :—“विषाणु बैक्टीरिया” विषयक सामान्य विनिबन्ध में यथा अधिकथित लेबल लगाने की अपेक्षा का अनुपालन किया जाएगा।

6. भंडारण और व्यवसाय की तारीख :—हिम शुष्कित मुक्त एच.बी.टी. बैक्टीरिया को छ मास के लिए 4 सें. पर भंडारित किया जा सकता है।

#### छाग पोक्स बैक्टीरिया (जीवित कोशिका संवर्धन)

1. पर्याय छाग पोक्स बैक्टीरिया (जीवित) तनुकृत गोठ पोक्स बैक्टीरिया।

2. परिभाषा :—छाग पोक्स बैक्टीरिया हिम शुष्क विनिर्मित है, जिसे छाग शावक के गुर्दे में क्षीण छाग पोक्स विषाणु पालकर या वृषण कोशिका संवर्धन द्वारा पालकर तैयार किया जाता है।

3. विनिर्मित :—रोज से मुक्त प्रारम्भिक शावक के गुद/वृषण कोशिका संवर्धन का प्रयोग किया जाता है जो कि विषाणु से संक्रामित एकागुणकपरत को 37 सें. पर उष्मायित किया जाता है। इस संवर्धन से हिमिकरण और हिम वृषण का संवर्धन संक्रमण के पश्चात् 6-7 हिमवृषण में तीन चरणों में होते हैं जब 80 प्रतिशत से अधिक कोशिकाएँ सी.पी.ई. का प्रदर्शन

करती हैं। यह निलम्बन 10 मिनट तक 1000 आर.पी.एम. अप-केन्ट्रिफ़र कोशिका मलबा को 20 नै. भण्डारित होने से पूर्व हटा देता है। यह निलम्बन 5 प्रतिशत दुग्ध एम्बुलिन जल, पशुदनी और सुकोज 10 प्रतिशत जोड़ देने से पश्चात् हिम शुष्कित किया जाएगा।

#### 4. मानक :—

(क) विवरण हल्का पीला रंग।

(ख) पहुँचान :—छाग पोक्स के विरुद्ध यह पूर्ववृद्धिनी संरक्षण प्रदान करता है।

(ग) आर्द्रता अन्तर्वस्तु :—आर्द्रता अन्तर्वस्तु 10 प्रतिशत से अधिक नहीं होगी।

(घ) सुरक्षा परीक्षण :—(i) प्रयोगशाला पशु छह बूढ़े, 3 मिनट पिग, 3 बरगोश को बैक्टीरिया के 0.2 मि.पि. से अन्तर पशुस्थित रूप से ऊष्मायित और 0.5 मि.पि. ऊपर 1.0 मि.पि. से अव्यक्त रूप से बैक्टीरिया के 10 फील्ड डोज से प्रयोग किया जाएगा। 10 दिन की प्रेक्षण अवधि के दौरान 3 ऊष्मायित पशु सामान्य रहेंगे।

(ii) छाग :—छह से आठ मास की आयु के ग्रहणशील दो छागों को उनके पशुवर्धीय क्षेत्र में अव्यक्त मार्ग से बैक्टीरिया के एक सौ फील्ड डोज द्वारा ऊष्मायित किया जाएगा। ऊष्मायित पशुओं में दो से तीन सी.एम.एम. से अधिक स्थानीय प्रतिक्रिया विकसित नहीं होगी। इन पशुओं का प्रेक्षण 10 दिनों तक किया जाएगा।

(ङ) अनुर्वरता परीक्षण :—“विषाणु बैक्टीरिया” संबंधी साधारण विनिबन्ध के अधीन वर्णित अनुर्वरता परीक्षण का अनुपालन किया जाएगा।

(च) कोशिका संवर्धन में अनुपात :—चार अनिवार्य व्यक्त नमूनों को शावकों के गुर्दे कोशिका संवर्धन में प्रत्येक तनुकरण के लिए 5 ट्यूब को प्रयोग करने हुए ऊष्मायित किया जाएगा। अनुपात की पुनरावृत्ति तीन बार की जाएगी। 1000 टी.सी.आई.डी. 50 का प्रयोग फील्ड डोज के रूप में किया जाता है।

(छ) शक्ति परीक्षण :—तीन ग्रहणशील छागों (जिनकी आयु 8-10 मास की हो) को फील्ड डोज के 1/10 में, और तीन ग्रहण-शील छागों (जिनकी आयु 8-10 मास की हो) अव्यक्त रूप में 1 फील्ड डोज से ऊष्मायित किया जाता है। ऊष्मायित छागों के पास तीन अन्तर्मर्क नियंत्रण भी रखा जाता है। इनका 14 दिनों तक प्रेक्षण किया जाता है और उनके शरीर का तापमान नियम अभिलिखित किया जाता है। टीकाकृत पशु कोई तापीय, स्थानीय या व्यापकीकृत प्रतिक्रिया प्रदर्शित नहीं करेंगे। संक्रामणोत्तर 21 दिन में टीकाकृत और नियंत्रणों की उग्र छाग पोक्स विषाणु के 10,000 टी.सी.आई.डी. 50 द्वारा अन्तरचर्मी मार्ग से चुनौतीकृत किया जाता है। इन छागों के तापमान का अभिलेख 14 दिन की अवधि तक रखा जाता है। टीकाकृत छागों में कोई स्थानीय या व्यापकीकृत प्रतिक्रिया विकसित नहीं होगी जब कि नियंत्रण छागों में उष्णताप स्थानीयकृत प्रतिक्रिया या कुछ मामलों में व्यापकीकृत प्रतिक्रिया भी विकसित होगी।

5. लेबल लगाना :—“विषाणु बैक्टीरिया” विषयक साधारण विषयक साधारण विनिबन्ध में अधिकथित लेबल लगाने की अपेक्षाओं का अनुपालन किया जाएगा।

6. भण्डारकरण और अयस्त्रा की तारीख :- ऐसी आशा की जाती है कि यह बैक्टीरिया अपनी शक्ति 12 मास तक बनाए रखेगी, यदि इसे 15° से 20° से. तापक्रम पर और तीन मास तक 2 से 4 से. पर भण्डारित रखा जाए।

मेथोक्स बैक्टीरिया (निष्कृत)

1. पर्याय :- प्राकृतिक जेल मेथ पाक्स (बैक्टीरिया)।

2. परिभाषा :- मेथ पाक्स बैक्टीरिया ऐसा उत्तक बैक्टीरिया है जो निष्कृत प्राकृतिक जेल द्वारा अभिक्रियित है।

3. विनिर्दिष्टि :- 8-12 मास की आयु वाले स्वस्थ ग्रहणशील मेंषों को इसी उग्र मेथ पाक्स विषाणु के 1,100 अनुकरण के 500 मि.लि. से अवशोषक रूप से संरोपित किया जाता है। सात से आठ संरोपणोत्तर दिन की उमर का चर्म बोथ सहित ले लिया जाता है। संक्रामित उत्तकों की उभय प्रतिरोधी फास्फेट में (पी.एच. 7.4-7.6) में 10 प्रतिशत सांद्रता से संभालीकृत किया जाता है जिसे विषाणु के निष्कोषण के पश्चात् अनुवैरक जेल और बफर (उभय प्रतिरोधी) में निम्नलिखित अनुपात में मिला दिया जाता है।

6 प्रतिशत एन्टीमोनियम हाइड्रोक्साइड	50 प्रतिशत
फास्फेट बफर (पी.एच. 7.6)	35 प्रतिशत
10 प्रतिशत निलम्बन	15 प्रतिशत

तत्पश्चात् इसे प्रकृतित कर दिया जाता है और 20°-25 से./10° से. पर चिननंघ अवधि के लिए भण्डारित किया जाता है।

(4) मानक विवरण : (क) यह भूरा श्वेत निलम्बन है। भंडारकरण की अवधि के दौरान जेल तल में बैठ जाता है। निलम्बन की ऊपरी परत स्पष्ट हो जाती है।

(ख) पट्टान : यह उत्पाद मेथ की मेथ पाक्स के विरुद्ध संरक्षण प्रदान करता है।

(ग) सुरक्षा परीक्षण : यह दो श्वेत बूँदों को बैक्टीरिया के 0.2 मि. लि. से एक मिली पिग को 1.0 मि.लि. से. और एक खरगोश को 3.0 मि.लि. से संरोपित करके पूरा किया जाता है। इन पशुओं को 10 दिन के लिए रोग लक्षण से बिल्कुल स्वस्थ रहना चाहिए।

(घ) अनुवैरता परीक्षण : यह प्रायिक जीवाणुशिक माध्यम पर बैक्टीरिया का बीजारोपण करके किया जाता है। प्लेटों और ट्यूबों को 10 दिनों के लिए 37° से. पर संरोपित किया जाता है। यदि रोगजनक जीवाणु पाये जाते हैं, तो बैक्टीरिया को अस्वीकृत कर जाता है जब कि गैर रोगजनक जीवाणु को बैक्टीरिया के साथ क्षैत्रीय उपयोग के लिए भेज दिया जाता है।

(ङ) क्षति परीक्षण : यह परीक्षण 4 अरोधक्षम ग्रहणशील मेंषों, अधिकतम 1-2 वर्ष के विदेशी नरन को इस बैक्टीरिया के 3 मि. लि. से अवशोषक रूप से उसके उग्र में संरोपित कर दिया जाता है।

संरोपण के पश्चात् टीकाकृत मेंषों को तीन नियंत्रणों के जख्म प्रत्येक को 0.1 मि.लि. उग्र विषणुओं के साथ जिसमें 200 संक्रामक डोज घंटावृत्त होते हैं, 15 दिन तक उनकी पूंछ के नीचे अर्धवर्मीय रूप से चेंजेज कर दिया जाता है। मेंषों का 10 दिनों तक प्रेक्षण किया जाता है और उनको स्वक प्रतिक्रिया को अधिलिखित किया जाता है। बैक्टीरिया को शक्ति सम्पन्न समझा जाता है, यदि सभी टीकाकृत मेंष छन्देय या स्थानीय प्रत्येक प्रतिक्रिया प्रदर्शित नहीं करते हैं। बैक्टीरिया तब भी संशय है यदि 3 टीकाकृत पशुओं में कोई प्रतिक्रिया विकसित

नहीं होती और एक मेथ विषणु स्वक प्रतिक्रिया दर्शित करता है। जबकि तीन नियंत्रणों में से कम से कम 2 में मनोपण के स्थल पर टोपिकल मेथ पाक्स प्रतिक्रिया विकसित हो जाती है।

5. लेबल लगाना : "विषाणु बैक्टीरिया" विषयक साधारण विनिर्दिष्ट में अधिकतम लेबल लगाने की अपेक्षाओं का अनुपालन करना।

6. भंडारकरण : बैक्टीरिया का भंडारकरण 40° से 50° से. ताप पर किया जाएगा। यह उक्त ताप पर 12 मास तक ठीक बना रहता है।

मेथ पाक्स बैक्टीरिया (जीवित कोशिका संवर्धन)

1. पर्याय : मेथ पाक्स बैक्टीरिया (जीवित) क्षीण मेथ पाक्स बैक्टीरिया।

2. परिभाषा : मेथ पाक्स बैक्टीरिया हिम शुष्कित विरघन है जिसे मैमने के गुर्दे के वृषण कोशिक संवर्धन में क्षीण में विषाणु की वृद्धि से तैयार किया जाता है।

3. विनिर्दिष्टि : प्राथमिक कोशिका संवर्धन का, जो निरोग मैमने के गुर्दे/वृषण से तैयार किया गया है, प्रयोग किया जाता है। बीज विषाणु से संक्रामित एकाणु कवर से 3° से. पर संरोपित की जाती है। संवर्धन हिमीकरण और हिमद्रव्य संक्रामणोत्तर 6 और 7 दिनों के तीन चरणों में परिणामित किए जाते हैं। जब 80 प्रतिशत से अधिक कोशिकाएँ सी.ए.पी.ई. दर्शित करती हैं। 20° से. पर भंडारित होने से पूर्व कोशिकीय मलबा हटाने के लिए 10 मिनट तक इस निलम्बन को 1000 भार.पी.एम. पर अपकेंद्रित रखा जाता है। इस निलम्बन को 5 प्रतिशत नैक्टएलबुमिन जालापघटनी और 10 प्रतिशत शर्करा मिलाने के पश्चात् हिमशुष्कित किया जाता है।

4. मानक :-

(क) विवरण : हल्का पीला रंग।

(ख) पट्टान : यह उत्पाद मेथ पाक्स के विरुद्ध संरक्षण प्रदान करता है।

(ग) घाईता अस्तवस्तु : घाईता की अस्तवस्तु 1.0 प्रतिशत से अधिक नहीं होनी चाहिए।

(घ) सुरक्षा परीक्षण : (i) छह बूँदें 3 मिली पिग और 3 खरगोश को बैक्टीरिया के 10 फील्ड डोज के 0.2 मि.लि. से अन्तर्द्व्यमित रूप से और 0.5 मि.लि. और 1.0 मि.लि. अवशोषक रूप से संरोपित किया जाता है।

संरोपित पशु 10 दिन के प्रेक्षण की अवधि के दौरान सामान्य रहेंगे।

(ii) 2 ग्रहणशील मेंषों में से प्रत्येक को पञ्चकनीय क्षेत्र में बैक्टीरिया के लिए एक सौ फील्ड डोजों की अवशोषक रूप से संरोपित किया जाता है। संरोपित पशु 2 से 3 से.मी. की स्थानीय प्रतिक्रिया से अधिक नहीं दर्शित करेंगे।

(ङ) अनुवैरता परीक्षण : विषाणु बैक्टीरिया विषयक साधारण विनिर्दिष्ट के अधीन यथा वर्णित रूप में अनुवर्णित परीक्षण का पालन किया जाएगा।

(च) कोशिका संवर्धन में अनुपात : चार अनिश्चित व्यक्तित्व नमूनों को रख रखाव माध्यम में पुनर्गठित करके प्रत्येक अनुकरण के लिए पांच नलिकाओं का प्रयोग करते हुए मैमने के गुर्दे से संरोपित किया जाता है। अनुपात की तीन बार पुनरावृत्ति की जायेगी। टी.सी.आई.डी. 50 का आकलन रोटो म्यूएल पद्धति से किया जाएगा। एक हजार टी.सी.आई.डी. 50 को एक फील्ड डोज के रूप में आकलित किया जाता है।

(छ) शक्ति परीक्षण : 8-10 मास की धायु के तीन ग्रहणशील सेवों को फील्ड डोज के 1/10वें घण से और 3 ग्रहणशील सेवों का एक फील्ड डोज से अवलोक रूप से संरोपित किया जाता है। संरोपित सेवों के साथ तीन संपर्क निर्वहक सेव भी रखे जाते हैं। इन पशुओं को 14 दिनों की अवधि के लिए प्रेषण में रखा जाता है और उनका तापक्रम नियंत्रित किया जाना है। टीकाकृत पशु, कोई उष्मीय स्थानीय साधारण कृत प्रतिक्रिया दर्शाते नहीं करते। 21 दिन संक्रमणोत्तर काल में टीकाकृत और निर्वहक पशुओं को अन्तर चर्मीय मार्ग से उपमेय पाकस विषाणु के 10,000 आई.डी.-50 से चुनौतिकृत किया जाता है। इन सेवों का तापक्रम 14 दिन तक अनिम्नलिखित किया जाता है 2 टीकाकृत सेवों में स्थानीय या साधारणीकृत प्रतिक्रिया विकसित नहीं होती चाहिए जबकि निर्वहक सेव में उच्च ज्वर स्थानीयकृत प्रतिक्रिया या कुछ मामलों में साधारणीकृत प्रतिक्रिया भी प्रकट हो सकती है।

5 लेबल लगाना : लेबल लगाने की अपेक्षाओं का जैसा कि "विषाणु वैक्सिन" के साधारण विनिबन्ध में अधिकारित है, अनुपालन करेगा।

6 भण्डारण और अवमान की तारीख : ऐसी भाषा की जानी है कि यह वैक्सिन यदि 50° से. से 20° से. श्रेष्ठ पर भण्डारित की जाएगी तो 12 मास तक अपनी शक्ति कायम रख सकती है और 2° से. से 4° से. श्रेष्ठ पर तीन मास तक अपनी शक्ति बनाये रखने सकती है।

ऊक्त बर्धन पशुमहामारी वैक्सिन :

1. पर्याय : कोशिका बर्धन-पशुमहामारी वैक्सिन।

2. परिभाषा : उक्त बर्धन पशुमहामारी वैक्सिन जीवित उपान्तरित पशुमहामारी विषाणु की द्विमणुष्यकृत विनिर्मित है जिसे उक्त संवर्धन में अनुकूलित और संवारित किया जाता है।

3. विनिर्मित : शुद्ध कोशिकाओं के (ग) अथवा अन्य कोई समुचित पशु) जो स्वस्थ और किसी विकृतिजन्य परिवर्तनों से मुक्त पशु के गर्द से लिए गए हों, प्राथमिक या द्वितीय एकाणुपरत संवर्धन का प्रयोग किया जाएगा। जब द्वितीय संवर्धन का प्रयोग किया जाएगा तो उनमें मूल मारफोलीजी और केन्द्रन प्ररूप बना रहेगा। पशुमहामारी विषाणु का केवेटों विभेद पैसेज, स्तर 99 वही से 100वीं पैसेज के बीच का प्लोराइट का विभेद का विभेद पूर्वी अफीका पशु चिकित्सा अनुसंधान संगठन द्वारा विकसित किया गया है प्रयोग किया जाएगा। एक कफ (गोशावक) के गर्द से या मिश्रितलेवार रूप से अब अब आवृत्त गी शुद्ध कोशिकाओं (जो प्राथमिक से 10 पैसेज अधिक दूर नहीं होगा) से विनिर्मित कोशिका एकाणुपरत संवर्धनों से कार्य परिणामित विषाणु को जो उसी सीड से संरोपित और एक साथ ही संवर्धनकृत होगा, उपर्युक्त परिणामों में स्थायी कार्य द्विमणुष्यकृत किया जाएगा।

4. मानक : विषाण्विक वैक्सिन के साधारण मानकों को अपेक्षाओं को पूरा करेगा।

(क) विवरण : शुष्क ब्लूके पीले रंग वाली पपड़ियाँ जो दृष्टांत गलाइन या उभय प्रतिलोचन मलाइन में तुरन्त घुल जायें।

(ख) पहचान : यह पशुओं की सुरक्षा उपविषाणु या बकरे की पशुमहामारी विषाणु की चुनौती से करता है।

(i) यह उक्त संवर्धन उन पद्धतियों के अनुमानन योग्य है जो इस विषाणु का वृद्धि की संश्लित करने को सक्षम है। इस परीक्षण को कम से कम तीन पृथक पृथक अवसरों पर विभिन्न पशुओं से व्युत्पन्न कोशिका संवर्धनों का प्रयोग करने हुए किया जाएगा।

(ii) विशिष्टता परीक्षण समुचित निष्प्रभावीकरण सीरम का प्रयोग करके किया जाएगा।

(ग) अनुवर्तता परीक्षण : प्रत्येक बैच का परीक्षण जीवाण्विक और कवकशक्तिक अनुवर्तता के लिए किया जाएगा जैसा कि विषाणु वैक्सिन के लिए साधारण विनिबन्ध में किया गया है।

(घ) झटानिकर परीक्षण : परीक्षण प्रत्येक बैच पर निर्वाचित कम से कम दो गिनी पियों में और छह चुट्टों में किया जाएगा। कम से कम दो सप्ताह तक इन पशुओं को प्रेक्षणाधीन, किसी प्रतिक्रिया को परखने के लिए रखा जाएगा।

(ङ) सुरक्षा और प्रभावोत्पादकता परीक्षण : 4 से अष्टम एम्बुलों की यादृच्छिक रूप से ली गई निम्नलिखित पुनर्गठित अन्तर्वस्तुओं का प्रयोग करके किया जाएगा। यह वैक्सिन कम से कम दो ऐसे ग्रहणशील पशुओं में से प्रत्येक को उसे प्रतिरक्षक से मुक्त ही अवलोक रूप से अन्तःक्षेपित किया जाएगा जिसमें 100 फील्ड डोज से न्यून मात्रा अन्तर्विष्ट नहीं होगी और दो और पशुओं के ऐसे एक फील्ड डोज (जो 1000 टी सी आई डी 50 के आधार पर एक फील्ड डोज के रूप में आकलित हो) का 1×10वां भाग अन्तःक्षेपित किया जाएगा। इन पशुओं को कम से कम दो वैक्सिन न किए गए पशुओं के साथ रखा जाएगा और तीन सप्ताह की अवधि के लिए प्रेक्षणाधीन रखा जाएगा। वैक्सिन सुरक्षा परीक्षण पूरा करके किया जाएगा यदि ये पशु अप्राप्यिक रोग लक्षण प्रतिक्रिया प्रदर्शित नहीं करते हैं।

तीन सप्ताह के अन्त में सभी चारों पशुओं के और दो सहवासी पशुओं सहित की उग्र पशु महामारी विषाणु के 10 आई डी 50 से अष्टम डोज में चुनौतीकृत किया जाएगा। यह वैक्सिन शक्ति/प्रभावोत्पादकता परीक्षण पूरा करेगा यदि सहवासी पशुओं में पशुमहामारी विकसित हो जाती है तथा सभी वैक्सिन न किए गए पशु सामान्य रह जाते हैं।

5. लेबल लगाना : विषाण्विक वैक्सिन विषयक साधारण विनिबन्ध का अनुपालन किया जाएगा। एक साट में प्रत्येक एम्बुल में 50 प्रति एम्बुलों में कम से कम निम्नलिखित मुद्रण अन्तर्विष्ट होगा :-

(1) टी सी आर पी वैक्सिन

(2) बैच सं. .... वर्ष सहित

(3) प्रयोग के साधारण अनुदेश

6. भण्डारण : यदि वैक्सिन --20° से. और 4° से. पर भण्डारित किया जाए तो कम्बः 2 वर्ष और 6 मास के लिए अपना अनुमानन बनाए रखेगा।

केनाइन डिस्टेंपर वैक्सिन

1. पर्याय केनाइन डिस्टेंपर वैक्सिन (जीवित द्विमणुष्यकृत)।

2. परिभाषा : यह एक द्विमणुष्यकृत विनिर्मित है जो या तो ऐसे विकसितपूर्ण जिसमें अंडे हों और जो केनाइन डिस्टेंपर विषाणु के विभेद में अनुकूलित हो, उसको से, या कोशिका संवर्धन से जिसमें उपान्तरिक विषाणु को कथित किया गया है, विनिर्मित किया जाता है।

विनिर्मित : केनाइन डिस्टेंपर वैक्सिन का विनिर्माण ऐसे कोशिका संवर्धन ब्रच से, जो विषाणु बहुत करता हो या संक्रमित कोसिस्को एपिटैल्स सिल्ली वाला हो, किया जाता है। वैक्सिन की विनिर्मित के लिए केवल ऐसे स्टॉक सीड विषाणु का प्रयोग किया जाएगा जो शुद्ध सुरक्षित और प्रतिरक्षारणविक सावित हो चुका हो। कुक्कुट भ्रूण, से संचारित स्टॉक सीड विषाणु की रोगजनकता का परीक्षण कुक्कुट भ्रूण परीक्षण द्वारा किया जाएगा। विषाणु के एक आयतन के विनिर्दिष्ट अनुवर्तक उष्मा निष्कृत सीरम के 9 आयतन के साथ मिटा दिया जाएगा। घोल को 9 से 11 दिन की धायु वाले बीस कुक्कुट भ्रूण के (एन्टानिक रैंक) 0.1 मि.लि. ए. सी.एस. पर और (0.1 मि. लि.) के साथ संरोपित कर दिया जाएगा।

भ्रूणीकृत अंडों को 7 दिनों तक नित्य बैकसिल किया जाएगा। प्रथम 24 घंटों के दौरान मृत्यु घटित होनेवालों को हटा दिया जाएगा। ऐसे भ्रूण जिनमें 4 घंटे के पर्याप्त मृत्यु हो जाती है उनके एएमएस परीक्षण किए जाएंगे। यदि आवश्यक होगा तो मृत्यु का कारण अवधारित करने के लिए भ्रूण का सबकल्वर किया जाएगा। सेरोपण्टिर के 7वें दिन ऐसे परीक्षणों को परिणामित करना होगा।

उत्तरजीवी भ्रूण और उनके सी एएमएस की परीक्षा की जाती है। यदि मृत्यु का असहमयता सेरोपण्ट के कारण बस घटित हो तो सीड विषाणु असंतोषप्रय है।

प्रतिरक्षाजनक परीक्षण :

8—14 सप्ताह की आयु के 13 ग्रहणशील श्वानों (दस बैकसिल किए गए और 3 नियंत्रणों) का प्रयोग इस परीक्षण के लिए किया जाएगा। इन पशुओं में से एक नमूना ले लिया जाता है और केमलन डिस्टेंपर के विशिष्ट प्रतिरक्षकों के लिए व्यवस्थित नमूना का परीक्षण किया जाता है, इस श्वानों को विषाणु के पूर्वनिर्धारित मात्रा में अन्तर्क्षिप्त किया जाएगा और शेष 3 श्वानों का प्रयोग बैकसिल न किए गए नियंत्रणों के रूप में किया जाएगा। इसकी डोज विषाणु अनुपात आधारित होगा। कम से कम 21 दिन संक्रमणोत्तर काल में बैकसिल किए गए और नियंत्रण उग्र केमलन डिस्टेंपर विषाणु के उसी डोज से अन्तर्क्षिप्त रीति से चुनोतीकृत कर दिया जाएगा और 21 दिनों तक इन पशुओं का नित्य प्रत्येक दिन प्रेषण किया जाएगा। तीन नियंत्रणों में से कम से कम दो की मृत्यु हो जानी चाहिए और शेष उत्तरजीवी केमलन डिस्टेंपर के विशिष्ट लक्षण प्रदर्शित करेंगे। 10 बैकसिल किए गए पशुओं में से कम से कम 9 को जीवित रहना चाहिए और प्रेषण की अवधि के दौरान केमलन डिस्टेंपर के कोई रोग लक्षण प्रकट नहीं करेंगे। स्टक सीड विषाणु का प्रतिरक्षाजनक के लिए पांच वर्षों में कम से कम एक बार किया जाना चाहिए, यदि संशय की समुचित बातों के अधीन इसे रखा गया हो। स्वस्थ समूहों में से आठ दिन की आयु वाले कुकुर भ्रूणों को उनके कोरियोएलन्टों में नेशन मिल्ली पर जीवाणिक रूप से अनुबंध विषाणु (विशेष अनुकूलित प्रभे के निलम्बन) से संपरीपित किया जाता है। पांच दिनों के उपनयन के पश्चात् संक्रमित मिल्ली और भ्रूणों का संलग्न किया जाता है। जीवाणिक अनुबंध के लिए व्यवस्थित भ्रूण का परीक्षण किया जाएगा। जीवाणिक संक्रमण से मुक्त भ्रूण को समुचित माध्यमों में 20 प्रतिशत निलम्बन में रखा जाता है। निलम्बन की एक डोज मात्रा में एम्बुलों पर फाईलों में वितरित करके हिम शुद्धित कर दिया जाता है।

एम्बुलों को बैकुप्रम के अधीन सीलबन्ध किया जाता है या शुद्ध शुष्क अनुबंध काइडोन से सीलबन्ध करने के पूर्व अभिक्रियाश्रित किया जाता है। बैकलिक रूप से विषाणु समुचित कोशिका संवर्धनों पर बढ़ाए जा सकते हैं। कोशिकाएं निलम्बित द्रवों सहित संलग्न की जाती हैं। एम्बुलों में एकडोज की मात्रा में वितरित की जाती है और हिमशुद्धित कर दी जाती है :

यामक :

(क) विषाणु यह शुष्क उत्पादन है, गुलाबी क्रिम क्रिम की बरतु है जो जल में शीघ्र घुल जाती है।

(ख) पहचान : यह उर्वरक अंडों के सी एम को संक्रामक करता है। यह केमलन अवस्थता प्रतिरीरम के द्वारा निष्प्रावी कर दिया जाता है। ग्रहणशील कोन्टों या श्वानों में संक्षिप्त किए जाने के पश्चात् कोई अवस्थताकारित नहीं करता है बल्कि उन्हें रोग के विशिष्ट प्रतिरक्षित करता है।

(ग) आइ अन्तर्वस्तु तैयार उत्पाद में आइ अन्तर्वस्तु 1.0 प्रतिशत से अधिक नहीं होगा।

(घ) अनुबंध परीक्षण : अनुबंध परीक्षण का अनुपालन उसी रीति से किया जाएगा, जैसा कि “विषाणु बैकसीन” विषयक विनियम में वर्णित है।

(ङ) सुरक्षा परीक्षण : (1) शुद्ध सुरक्षा परीक्षण : सुझाए गए रूप में बैकसीन का परीक्षण किया जाएगा और सप्ताह की आयु वाले आठ भ्रूणों की अन्तर्क्षिप्त रीति से 0.03 मि०ली० से और आठ भ्रूणों को 0.5 मि० ली से अन्तर्क्षिप्त रीति से संरोपित किया जाएगा। दोनों समूहों को 7 दिन के लिए प्रेषणाधीन रखा जाएगा। यदि प्रेषण अवधि के दौरान दोनों समूहों में से 2 या अधिक भ्रूणों में अनुकूल प्रतिक्रिया, जो उत्पादों पर आरोप्य है, दिखाई पड़े तो यह बैक असंतोषप्रय है।

(2) श्वान सुरक्षा परीक्षण : दो स्वस्थ ग्रहणशील श्वानों को 8 दिनों से 10 दिन बैकसीन के डोजों से, जो अनुबंध तनुकारी में पुनःजलोजित किए गए हों, विहित मार्ग से संरोपित किया जाएगा और 21 दिन तक प्रेषणाधीन रखा जाएगा। कोई भी श्वान यावक जिसे संरोपित किया गया है, किसी स्थानीय या नियमित प्रतिक्रिया का प्रदर्शन नहीं करेगा।

(च) शक्ति परीक्षण :

(i) विषाणु अनुपात : तैयार उत्पादों के अन्तिम नमूनों को विषाणु अनुपात द्वारा परीक्षित किया जाएगा और अवसान अवधि के भीतर, किसी समय परीक्षण किए जाने पर इसमें प्रति डोज 103.0 आई की 50 से कम नहीं होना चाहिए।

(ii) यह श्वानों पर किया जाएगा। निष्प्रावी करने वाले डिस्टेंपर प्रतिरक्षकों के उन्मुक्त 8—14 सप्ताह की आयु के दो स्वस्थ ग्रहणशील श्वानों में से प्रत्येक को एक बैकसीन के डोज के अवस्थक रूप से अन्तर्क्षिप्त किया जाएगा। बैकसीन दिए जाने के पश्चात् 14 दिनों तक प्रत्येक श्वान से सीरम नमूने इकट्ठे किए जाएंगे जिनमें 1 : 100 के तनुकरण में विशिष्ट निष्प्रावी प्रतिरक्षक होंगे।

5. लेबल लगाना :—“विषाणु बैकसीन” विषयक साधारण विनियम के अधिकृत लेबल लगाने की अपेक्षाओं का अनुपालन करेगा।

6. संशय और अवसान की तारीख :—हिमशुद्धित उत्पादों के लिए अवसान की तारीख एक वर्ष की होगी जब उसे—20° से. पर भण्डारित किया जाए।

पक्षी संक्रामक श्वसनी शोष बैकसीन (जीवित)

1. पर्याप्त पक्षी संक्रामक श्वसनी शोष बैकसीन (जीवित) हिमशुद्धित।

2. परिभाषा : यह निम्न उम्रता वाले पक्षी संक्रामक श्वसनीशोष विषाणु का हिमशुद्धित उत्पाद है जिसे भ्रूणीकृत मुर्गी के अंडे में उत्पन्न किया जाता है या कोशिका संवर्धनों में कर्मित किया जाता है।

3. विनियम :—केवल ऐसे स्टॉक सीड विषाणु का प्रयोग किया जाएगा जो शुद्ध सुरक्षित और प्रतिरक्षाज्य हों। स्टॉक सीड के प्रत्येक लॉट का परीक्षण रोगजनकता के लिए निम्नलिखित विधि से कुकुर भ्रूण संरोपण परीक्षण द्वारा किया जाएगा।

सीड विषाणु के एक लॉट को अनुबंध उष्मानिष्कृत विशिष्ट प्रतिरीरम के 9 आयतनों के साथ निष्प्रावी करने के लिए मिला दिया जाएगा और विषाणु बैकसीन सीरम घोल को 9—11 दिन की आयु के कम से

कम 20 पूर्णतः ग्रहणशील कुक्कुट भूणों में से प्रत्येक में (प्रलाइनटोइक सेक में सी ए एम मि. लि. पर और 0.1 मि. लि. पर) संरोपित किया जाएगा। सात दिनों तक अंडों को नित्य कैंबिल किया जाता है। प्रथम 24 घंटों के दौरान घटित होने वाली मृत्यु पर ध्यान नहीं दिया जाएगा किन्तु मान्यता वाले परीक्षण के लिए संरोपणोत्तर 24 घंटे की अवधि में कम से कम 18 जीवनकक्षम भूण अवस्थित रहेंगे। 24 घंटों के पश्चात् मरने वाले सभी भूणों और भूणों से सी ए एम की परीक्षा की जाएगी। यदि आवश्यक हो तो मृत्यु का कारण प्रभावधारित करने के लिए भूण उप संवर्द्धन सब्ज कल्चर किया जाएगा। उम परीक्षण का संरोपणान्तर 7वें दिन किया जाएगा और अवस्थित भूणों की जिनमें सी ए एम भी सम्मिलित है परीक्षा की जाएगी। यदि स्टार्क सीड विषाणु पर मृत्यु और/या प्रसहनता घटित हो तो साठ असंतोषजनक होगा।

स्टार्क सीड विषाणु के प्रत्येक साठ की प्रतिरक्षाजर्मी के लिए निम्न-लिखित रूप में परीक्षा की जाएगी।

प्रसनी शोध के प्रति ग्रहणशील एक ही आयु और स्त्रोत के कुक्कुटों का प्रयोग किया जाएगा। लेबल पर लिखित लागू करने की पद्धति के लिए और प्रत्येक सीरो टायप के लिए जिनके विरुद्ध सुरक्षा का दावा किया जाए 20 कुक्कुटों का प्रयोग बैक्सीनेट्स के रूप में किया जाएगा। प्रत्येक ऐसी सीरोटाइप के लिए, जिनके लिए संरक्षण का दावा किया जाए उस अतिरिक्त कुक्कुटों को बैक्सीनेट्स न किए गए नियंत्रण के रूप में रखा जाएगा। बैक्सीनेशन के पश्चात् 21 से 28 दिनों के दौरान सभी बैक्सीनेट्स और नियंत्रणों को उच्च प्रसनीशोध विषाणु के बहुबन्ध द्वारा चुनौतीकृत किया जाएगा। प्रत्येक ऐसे सीरोटाइप के लिए जिसके विरुद्ध सुरक्षा का दावा किया जाए बैक्सीनेट्स और नियंत्रणों का पृथक सैट प्रयोग किया जाएगा। चुनौती कृत विषाणु का अनुपापन कम से कम 104.66 आई ई डी/50 प्रति मि. लि. होगा प्रत्येक बैक्सीनेट्स नियंत्रणों से उत्तर चुनौती के पांच दिनों में एक बार बवास प्रणाली से स्लैब लिया जाएगा। प्रत्येक स्लैब को एक ऐसी परखनली में रखा जाएगा जिसमें तीन मि. लि. ट्रिटोन फास्फेट थोथ और एंटीबायोटिक है। परखनलियों और स्लैबों का भ्रमर में पूरा-पूरा परिधमित किया जाएगा और अंडे के संरोपण तक 40° से पर अंडे के संरोपित तक संवित रहने तक अण्ठा-रित कर दिया जाएगा। प्रत्येक कुक्कुट स्लैबों के लिए कम से कम 9 से 11 दिन की आयु वाले पांच कुक्कुट भूणों को इलान्टोइक के कैबिटी में प्रत्येक परखनली से थोथ को 0.2 मि. लि. से संरोपित किया जाएगा। संरोपणोत्तर काल में तीसरे दिन सभी उत्तरस्थित भूणों का प्रयोग आकलन करने में किया जाएगा। प्रवासनली स्लैब विषाणु से मुक्ति के लिए सकारात्मक हो जाएगा जब भूणों में से कोई विशिष्ट संक्रमक प्रसनीशोध विषाणु के विक्षत जैसे स्टैप्टोकोक, कर्नलिंग गुर्वे के यूरेंट कल्चर उतार या मृत्यु संरोपणान्तर अवधि के 4.7 दिन के दौरान घटित हो जाए ;

विषाणु से निरोग होने के लिए 90 प्रतिशत नियंत्रणों का सकारात्मक साधित होना चाहिए। यदि 90 प्रतिशत से कम विषाणु से मुक्ति के लिए नकारात्मक हो तो स्टार्क सीड असंतोषप्रव है। स्टार्क सीड विषाणु की परीक्षा प्रतिरक्षाजर्मी के लिए 5 वर्ष में एक बार की जानी चाहिए यदि इसे प्रसनीशोध विषाणु भण्डारण की मानक शर्तों के अधीन रखा गया है।

#### 4 मानक :

(क) विषाणु तनुकरण में सहज ही घूम जाने वाला यह भूरा सफेक उत्पाद है।

(ख) पहचान (i) फ्लैड प्रयोग के लिए अनुदेशों के अनुसार एम पुल की अन्तर्वस्तुएं निलम्बित कर दी जाती है। 9—11 दिन की आयु वाले कुक्कुट भूणों के एसाप्टोयिक कैबिटी में ऐसे निलम्बन का 0.2 मि. लि. संरोपित किया जाएगा और प्रत्येक सात दिनों तक उष्मायित किया जाएगा। उष्मा न अवधि के अन्त में इन भूणों में संक्रमक प्रसनीशोध के विशिष्ट

विक्षत देखे जायेंगे। एसाप्टोयिक ब्रब कुक्कुट और बी सी को अविलम्ब नहीं करेगा।

(ii) पक्षी संक्रमक प्रसनीशोध विषाणु के विरुद्ध विशिष्ट प्रतिसीरम बैक्सीन विषाणु को निष्प्रभावी कर देंगे।

(ग) आश्रित की अन्तर्वस्तु तैयार आश्रित में अन्तर्वस्तु 1.0 प्रतिशत से अधिक नहीं होगी।

(घ) अनुवर्यता की परीक्षा—“विषाणविक बैक्सीन” विषयक साधारण विनिबन्ध के अधीन वर्णित रूप में अनुवर्यता के संबंध में परीक्षण का अनुपालन किया जाएगा।

(ङ) सुरक्षा परीक्षण :—एक ही स्त्रोत, बैच से लिए गए 5—10 दिन की आयु वाले उस स्वस्थ ग्रहणशील कुक्कुट शावकों को विहित मार्ग से बैक्सीन के उस फोल्ड डोजों से बैक्सिन किया जाएगा और साथ ही उसी बैच से पांच कुक्कुट शावकों को बैक्सिन न किए गए नियंत्रणों के रूप में रखा जाएगा तथा बैक्सिनेशन के पश्चात् 21 दिनों के लिए प्रेक्षाधीन रखा जाएगा। प्रयोग किए गए अधिक कुक्कुट शावक में न तो तीव्र प्रसनी लक्षण प्रकट होंगे, न ही मृत्यु घटित होगी। बैक्सिन न किए गए नियंत्रणों में से कोई कुक्कुट शावक किसी रोग लक्षण को प्रकट नहीं करेगा।

शक्ति परीक्षण :—हिम शुष्कित उत्पाद की न्यूनतम विषाणविक अन्तर्वस्तु प्रति पक्षी 300 ई आई डी-50 से कम नहीं होगी बैक्सीन की विषाणु अन्तर्वस्तु नीचे लिखे रूप में अनुमानित की जाएगी।

हिम शुष्कित वस्तु का क्रमिक वसधार अनुकरण ट्रिटोन फास्फेट घुप में तैयार किया जाएगा। (9—10 दिन की आयु वाले) तीन से पांच भूणोक्त अंडों को प्रत्येक तनुकरण के 0.1 मि. लि. से एसाप्टोयिक कैबिटी में संरोपित किया जाएगा और सात दिनों तक नित्य प्रेक्षाधीन रखा जाएगा। प्रथम 24 घंटों के दौरान घटित मृत्यु वाले मासलों को छोड़ दिया जाएगा। शोध अवस्थित भूणों की परीक्षा संक्रमण के सक्षम के रूप में की जाएगी और ई आई डी 50 का आकलन रीड और मुएच पद्धति से स्पीयरमैन और कार्बीर पद्धति से किया जाएगा।

#### 5 लेबल लगाना :

विषाणु बैक्सीन विषयक-साधारण विनिबन्ध के अधिकथित रूप में लेबल लगाने की अपेक्षाएं पूरी की जाएंगी।

6. बण्डारण और व्यवसान की तारीख :—छह मास के लिए 4° से. पर भण्डारण किया जाएगा।

[सं. एक्स—11013/3/82—बी एम एस एंड पी एक ए]

एस. बी. सुब्रह्मण्यम, संयुक्त सचिव

#### टिप्पण :—

औषधि और प्रसाधन सामग्री नियम, 1945, 1-5-79 तक यथा संशोधित रूप में स्वास्थ्य और परिवार कल्याण (स्वास्थ्य विभाग) के प्रकाशन में, जिसमें औषधि और प्रसाधन सामग्री अधिनियम और नियम (पी डी बी एस/61) भी सम्मिलित है, अन्तर्निष्ठ है। तत्पश्चात् उक्त नियमों में भारत के राजपत्र भाग II, खंड (3) (i) में प्रकाशित निम्न-लिखित अधिसूचनाओं द्वारा संशोधित किए गए हैं :—

1. मा. का. नि. 1241 तारीख 6-10-79
2. मा. का. नि. 1242 तारीख 6-10-79
3. सा. का. नि. 1243 तारीख 6-10-79
4. सा. का. नि. 1281 तारीख 12-10-79
5. सा. का. नि. 430 तारीख 19-4-80
6. सा. का. नि. 779 तारीख 20-7-80

7. सा. का. नि. 540 (प्र) तारीख 22-9-80
8. सा. का. नि. 680 (प्र) तारीख 5-12-80
9. सा. का. नि. 681 (प्र) तारीख 5-12-80
10. सा. का. नि. 682 (प्र) तारीख 5-12-80
11. सा. का. नि. 27 (प्र) तारीख 17-1-81
12. सा. का. नि. 478 (प्र) तारीख 6-8-81
13. सा. का. नि. 62 (प्र) तारीख 15-2-82
14. सा. का. नि. 462 (प्र) तारीख 22-6-82
15. सा. का. नि. 510 (प्र) तारीख 26-7-82
16. सा. का. नि. 13 (प्र) तारीख 7-1-83
17. सा. का. नि. 318 (प्र) तारीख 1-5-84
18. सा. का. नि. 331 (प्र) तारीख 8-5-84
19. सा. का. नि. 460 (प्र) तारीख 20-6-84
20. सा. का. नि. 487 (प्र) तारीख 2-7-84
21. सा. का. नि. 89 (प्र) तारीख 16-2-85
22. सा. का. नि. 788 (प्र) तारीख 10-10-85
23. सा. का. नि. 17 (प्र) तारीख 7-1-86
24. सा. का. नि. 1049 (प्र) तारीख 29-8-86
25. सा. का. नि. 1060 (प्र) तारीख 5-9-86
26. सा. का. नि. 1115 (प्र) तारीख 30-9-86
27. सा. का. नि. 71 (प्र) तारीख 30-1-87

## MINISTRY OF HEALTH AND FAMILY WELFARE

(Department of Health)

New Delhi, the 26th March, 1987

### NOTIFICATION

G.S.R. 309(E).—The following draft of certain rules further to amend the Drugs and Cosmetics Rules, 1945, which the Central Government proposes to make in exercise of the powers conferred by sections 12 and 33 of the Drugs and Cosmetics Act, 1940, (23 of 1940), after consultation with the Drugs Technical Advisory Board, is hereby published, as required by the said sections, for the information of all persons likely to be affected thereby; and notice is hereby given that the said rules will be taken into consideration on or after the expiry of a period of sixty days from the date on which the copies of the Official Gazette in which this notification is published are made available to the public.

Any objections or suggestions which may be received from any person with respect to the said draft rules before the expiry of the aforesaid period of sixty days will be considered by the Central Government. Objections or suggestions, if any, may be sent to the Secretary to the Government of India, Ministry of Health and Family Welfare, New Delhi.

### DRAFT RULES

1. These rules may be called the Drugs and Cosmetics (Amendment) Rules, 1987.

2. In the Drugs and Cosmetics Rules, 1945, in Schedule F(1), Part-I,

### PROVISIONS APPLICABLE TO THE PRODUCTION OF BACTERIAL VACCINES

(1) Under the heading "(A)"

(a) In paragraph 3, after entry 6, the following entries shall be inserted, namely :—

"7. Multi-Component Clostridial Vaccine.

8. Hemorrhagic Septicaemia Vaccine Alum Treated";

(b) Under the monograph, "Anthrax Spore Vaccine (Living)",

(i) in para 4, for standard (g), the following shall be substituted, namely :—

"(g) Viable Count—the Vaccine when plated on suitable media should show 10 million viable spores per dose";

(ii) for para 6, the following shall be substituted, namely :—

"(6) Expiry date :—The date of expiry of the potency of the vaccine shall be not more than two years from the date of manufacture if stored at 4°C and six months, if stored at room temperature";

(c) the following monographs and entries shall be inserted at the end, namely :—

### MULTICOMPONENT CLOSTRIDIAL VACCINE

1. Synonyms :—Combined anaculture of *Clostridium perfringens* type C and D, C1, septicum and C1 Oedematis.

2. Definition :—It consists of four highly antigenic components containing the toxoids of C1. *perfringens* type D, C1. *Perfringens* type C, C1 Oedematis and C1. *Septicum* which are prepared in double strength and the combined in such a proportion that would invoke adequate anti-toxin response in the vaccinated sheep against each antigen incorporated in the vaccine.

3. Preparation :—The above strains are grown separately in suitable liquid media under conditions which ensure maximum toxin production. The cultures are checked for purity and toxicity in mice. Solution of formaldehyde, I.P., of analytical grade is added to a 0.5 per cent final concentration and formalised cultures are kept at 37°C till the product is sterilised and atoxic. The formalised anacultures are pooled, precipitated by the addition of Aluminium chloride, 20 per cent solution in distilled water to have a final concentration of the Chemical to 10 per cent and pH adjusted to 6.0. The sedimented toxoid is reconstituted to its half the original volume in normal saline.

4. Standards :—

(a) Description :—It is a whitish liquid when shaken thoroughly to contain killed bacteria and toxoid in suspension.

- (b) Identification :—When injected into susceptible animals it stimulates the production of epsilon and beta antitoxins against *Cl. perfringens* type D and C and also antitoxins against *Cl. septicum* and toxin of *Cl. Oedematiens*.
- (c) Sterility test :—Complies with the test of sterility described in general monograph on "Bacterial Vaccine".
- (d) Safety test :—Four sheep each are inoculated with 10 ml. S/C of the product and these are observed for 7 days during which period the animals shall not show any local or systemic reaction.
- (e) Potency test :—Eight sheep each are inoculated with 2 doses of vaccine S/C at an interval of 21 days and bled on 10th day after 2nd inoculation, for collection of serum for assessing the antitoxin titre against each antigen incorporated in the vaccine. The post-inoculation serum should contain not less than 2 i.u. of epsilon and beta antitoxins of *Cl. perfringens* and 2.5 i.u. of *Cl. septicum* antitoxin and 4 i.u. of *Cl. oedematiens* antitoxin.

5. Labelling and storage :—Shall comply with the requirements regarding labelling and storage as laid down in the general monograph on "Bacterial Vaccine".

6. Expiry date :—The expiry date of potency of vaccine shall not be more than 6 months from the date of manufacture.

#### HEMORRHAGIC SEPTICAEMIA VACCINE-ALUM TREATED

1. Synonyms :—*Pasteurella multocida* (*Yersinia multocida*) vaccine-Alum treated.

2. Definition :—The vaccine is a formalised culture of a virulent strain of *Pasteurella multocida* in nutrient broth treated with potass alum.

3. Preparation :—A highly potent strain of *Pasteurella multocida* type I in phase I is grown on nutrient broth at 37°C. The pure growth is killed by the addition of a solution of formalin I.P. in suitable concentration. (0.5 per cent). This is treated with potassium alum I.P. to give a final concentration of 1 per cent.

4. Standard :—

- (a) Description :—It is a white suspension containing dead bacteria and alum.
- (b) Identification :—It protects susceptible animals against infection with *P. multocida*.
- (c) Sterility test :—Complies with the test for sterility described under the general monograph on "Bacterial Vaccines";

- (d) Safety test :—Four healthy rabbits each weighing 1 to 1.5 kg. are inoculated subcutaneously each with 5 ml. of the product. There shall be no untoward reaction during the period of observation for 7 days except slight local swelling. Alternatively two rabbits and six mice may be employed. The dose for mice will be 0.5 ml.

5. Labelling and Storage :—Shall comply with the requirements of labelling and storage as laid down in the general monograph on "Bacterial Vaccine".

6. Expiry date :—The date of expiry of potency of the vaccine shall be not more than six months from the date of manufacture.

(2) under the heading "(B) PROVISIONS APPLICABLE TO THE PRODUCTION OF VIRAL VACCINES";

(a) in paragraph 3, after entry (xi), the following shall be inserted, namely :—

"(xii) Foot and Mouth Disease Vaccine (Inactivated);

(xiii) Canine Hepatitis Vaccine (Living)";

(b) for paragraph 4, the following shall be substituted, namely :—

"4. Records :—The seed virus used in the preparation of vaccine shall, before being used for preparing a batch, be thoroughly tested for purity, safety, sterility and antigenicity by the generally accepted tests applicable to a particular virus. It shall not be more than five passages away from the stock seed virus, unless otherwise prescribed for a particular virus. The stock seed virus shall be maintained by seed-lot-system at specified passage level and tested for bacterial, mycoplasmal and extraneous viral contamination. The permanent record which the licensee is required to keep shall include a record of the origin, properties and characteristics of the seed virus from which the vaccines are made";

(c) in paragraph 7, after sub-paragraph (ii), the following shall be inserted, namely :—

"(iii) The poultry birds from which eggs and cell culture for production of vaccines are obtained should be housed in a manner so as to keep them free from extraneous infection and shall be screened at frequent intervals for common bacterial, mycoplasmal and viral infections. The record of the tests and their results shall be maintained by the manufacture";

(d) under the monograph "Fowl Pox vaccine Chick Embryo Virus (Living)", in paragraph 3, for the words "Twelve to thirteen days old embryos are injected membrane (stock seed virus)", the following shall be substituted, namely :—

"Twelve to thirteen days old embryos are injected with a suitable dilution of the suspension of the infected membrane (seed virus) of chick embryo adapted fowl pox virus";

- (e) Under the monograph "Fowl Pox Vaccine Pigeon Pox virus (Living)", in paragraph 4, in sub-paragraph (c), after the second paragraphs, the following shall be inserted, namely :—

"Three of the test birds are injected intratracheally with 0.2 ml. of 10 times of the field dose of the vaccine under test. This group serves to indicate whether the product is free from the virus of infectious laryngotracheitis and similar diseases".

- (f) under the monograph "Ranikhet Disease Vaccine (Living)", in paragraph 4, in sub-paragraph (c), the word "Coryza" occurring in the third paragraph shall be omitted and after the said third paragraph, the following shall be inserted namely :—

"Three of the test birds are injected intranasally with 0.2 ml. of the vaccine to be tested. This group serves to indicate whether the product is free from virus of Coryza and similar diseases".

- (g) under the monograph "Ranikhet Disease Vaccine F Strain (Living)", in paragraph 4, in sub-paragraph (c), for the figures "0.1", the figures "1.0" shall be substituted ;

- (h) the following monographs and entries shall be inserted at the end namely :—

- (b) Identification :—It protects cattle against Foot and Mouth Disease due to homologous type/subtype of virus.

- (c) Sterility test :—It shall comply with the tests for sterility as prescribed under the "general monograph of viral vaccines".

- (d) Safety test :—Not less than 4 anweaned mice are inoculated with 0.1 ml. of vaccine intramuscularly from 4 different bottles of the monovalent vaccines and are kept under observation for 10 days. All inoculated mice shall remain normal. (This test is now suitable for vaccine prepared in BHK 21 cell cultures). Five healthy mice 4-5 weeks old are inoculated intramuscularly with 0.5 ml. of the monovalent vaccine and kept for 10 days, under observation. All mice shall remain normal. Two adult guinea pigs are inoculated intramuscularly with two ml. of monovalent vaccine and kept under observation for seven days. All guinea pigs shall remain normal. Three susceptible cattle are inoculated with monovalent vaccine into the multiple sites on the tongue and observed for 10 days. No lesions of foot and mouth disease shall develop.

- (c) Potency test :—Each batch of monovalent FMD vaccine is to be tested in susceptible cattle not below 15 months of age. The  $PD_{50}$  must be determined and the vaccine passes the test if an observed  $PD_{50}$  value of 3 or greater is obtained. An alternative method is also acceptable wherein ten cattle are inoculated subcutaneously in the dewlap with the recommended dose of the vaccine. The vaccinated animals alongwith two susceptible controls are needle challenged after 21 days on the tongue with a dose containing 10,000  $ID_{50}$  of the homologous cattle tongue virus. The cattle are examined for a period of 7 days. The vaccine should provide atleast 70 per cent protection as determined by the absence of generalized lesions.

### FOOT AND MOUTH DISEASE VACCINE (INACTIVATED)

1. Synonym :—Inactivated Tissue Culture mono or polyvalent Foot and Mouth Disease Vaccine.

2. Definition :—Foot and Mouth Disease Vaccine is a liquid product or preparation containing one or more types of foot and mouth disease virus which have been inactivated in such a way that its immunogenic property is maintained. It may also contain an adjuvant. The vaccine is described as monovalent, bivalent, trivalent or polyvalent depending on the number of types of virus used.

3. Preparation :—The virus is propagated in suitable cell culture. The cell culture is infected with an appropriate inoculum of virus and incubated at a suitable temperature for multiplication of virus. The virus is harvested and cellular debris removed by filtration. Inactivation is carried out by a suitable agent such as formaldehyde solution or an aziridine compound. The adjuvant may be aluminium hydroxide and/or saponin. In case of inactivated gel vaccine the antigen is concentrated by sedimentation at  $+4^{\circ}\text{C}$ . For preparing a Polyvalent vaccine, monovalent antigens are mixed in appropriate quantities to give the final mixture which is the formulated vaccine.

4. Standards :—

- (a) Description :—Aluminium hydroxide gel vaccine settles down to variable degree on storage leaving the supernatant clear.

5. Labelling :—

It is labelled as described under the requirements of "Labelling" as laid down in the general monograph, with the additional requirement that the label on the container states the virus types used in the preparation.

6. Storage :—

It should be protected from light and stored at  $2^{\circ}\text{C}$  to  $8^{\circ}\text{C}$ . Under these conditions it may be expected to retain its potency for not less than 12 months. Freezing of aluminium hydroxide vaccines must be avoided. The frozen product will not be fit for use.

**CANINE HEPATITIS VACCINE (LIVING)**

1. Synonyms :—Infectious Canine Hepatitis Vaccine (Living), Canine Hepatitis Cell Culture Vaccine.

2. Definition :—Canine Hepatitis Vaccine (Living) is a freeze dried preparation of tissue culture fluid containing the cell culture adapted canine hepatitis virus.

3. Preparation :—Canine hepatitis vaccine shall be prepared from virus bearing cell culture fluid.

Only stock seed virus which has been established as pure, safe and immunogenic shall be used in the preparation of the vaccine.

Immunogenicity test :—Each lot of stock seed virus shall be tested for immunogenicity as follows :

Thirteen Canine hepatitis susceptible dogs, 8—14 weeks old shall be used for the test (10 vaccinates and 3 controls). Blood samples may be drawn from these animals and individual serum samples tested for the presence of antibodies against canine hepatitis virus. Ten dogs shall be injected subcutaneously with predetermined quantity of the virus and remaining 3 dogs are kept as unvaccinated controls. The dose calculation will be based on virus titration in suitable cell culture system. Not less than 14 days post vaccination, the vaccinated and controls shall each be challenged intravenously with virulent infectious canine hepatitis virus and observed daily for 14 days. At least 2 out of 3 controls should die and the survivors shall show the clinical signs of canine hepatitis. Nine out of ten vaccinated dogs shall survive and shall not show any signs of infectious canine hepatitis during the observation period.

The stock seed virus shall be tested once in 5 years if maintained under standard condition as prescribed.

The stock seed virus may be inoculated on a suitable tissue culture system and may be incubated for five to seven days.

The tissue culture fluid is then harvested and titrated in cell culture system for virus content. After appropriate dilution and pooling, the material is stored at minus 20°C until freeze dried. Each vaccine dose shall contain not less than  $10^{3.5}$  TCID<sub>50</sub>/dose.

4. Standards :—

(a) Description :—The dried product is a pinkish cream material readily dispersible in water. The reconstituted vaccine is a pinkish liquid.

(b) Identification :—It causes characteristic cytopathic effect in dog, pig and ferret kidney monolayers. This can be neutralized by specific antiserum. When inoculated into dogs, the development of specific neutralizing antibodies can be demonstrated by suitable serological tests.

(c) Moisture content :—In the finished product moisture content shall not exceed 1.0 per cent.

(d) Sterility test :—Shall comply with the tests for sterility as described under the general monograph on "Viral Vaccines".

(e) Safety test :—Mouse safety test. Vaccine prepared for use as recommended on the label shall be tested. Eight mice shall be inoculated intracerebrally with 0.03 ml and 8 mice shall be inoculated intraperitoneally with 0.5 ml. Both the groups shall be observed for seven days. If unfavourable reaction attributable to the product occurs in two or more mice in either group during the observation period, the batch is unsatisfactory.

Dog Safety test :—Each of the two susceptible pups aged 8—14 weeks shall be injected with vaccine equivalent of 10 vaccinating doses from the batch reconstituted with sterile diluent and administered in the manner recommended on the label and observed for 21 days. None of the pups shall show any unfavourable reaction during the period of observation.

(f) Potency test, Virus Titration :—Samples of finished product shall be tested for virus titre in suitable cell culture system. The batch shall have a virus titre of not less than  $10^{3.5}$  TCID<sub>50</sub>/dose.

Potency test in dog :—Ten healthy susceptible dogs of 8—14 weeks of age shall be injected subcutaneously with one vaccine dose. 14 days after vaccination, specific neutralizing antibodies from both the dogs shall be demonstrable by serological tests.

5. Labelling :—Shall comply with the requirement for labelling as laid down in the general monograph on "Viral Vaccines".

6. Storage :—The dry product shall be stored at temperature of minus 20°C or below. The vaccine is expected to retain its potency for about 6 months in the freezing chamber of the refrigerator (temperature approximately minus 8°C.).

**DUCK PLAGUE VACCINE**

1. Definition : Duck plague vaccine is a suspension of modified living virus prepared from infected chick embryos.

2. Preparation : Fresh fertile hen's eggs obtained from Salmonella free flocks are incubated in an Incubator. Nine days old embryos are injected with 0.2 ml of the suitable dilution (1 in 100) of the suspension of the virus, on the CAM and incubated at 37°C for 5 days post-inoculation. Dead embryos of the 3rd, 4th and 5th day post-inoculation are harvested. The embryos (Devoid of head and legs), clear fluid and the membranes are collected and homogenised in a Blender, ampouled in 0.5 ml. quantities and freeze dried.

## 3. Standards :—

- (a) Description :—Light brown scales
- (b) Identification :—This product affords protection to the ducks against duck plague,
- (c) Safety test :—Four healthy, 8 to 12 weeks old ducks weighing not less than 600 gms are inoculated subcutaneously with 1 ml of  $10^{-1}$  dilution of the vaccine and observed for a period of 14 days. During the period of observation, the ducks shall not show any untoward reaction.
- (d) Sterility test :—Shall comply with the test for sterility described in the general monograph on "Viral Vaccines".
- (e) Potency test :—Six susceptible ducks 8 to 12 weeks old each weighing not less than 600 gms. are inoculated subcutaneously with 1 ml of  $10^{-3}$  dilution of the vaccine. vaccine should have<sup>8,5</sup> EID<sub>50</sub> 14 days. The minimum virus content in 1 dose of the later these ducks are challenged subcutaneously each with 1 ml. of  $10^{-1}$  dilution of the virulent duck plague virus (1000 DEID<sub>50</sub> alongwith 2 unprotected young ducks of about 8—12 weeks age. The unprotected ducks shall show symptoms of duck plague and die within 10 days, while the protected ducks shall remain normal during the observation period of 14 days.

4. Labelling :—Should comply with the requirements of labelling as laid down in the general monograph on "Viral Vaccines".

5. Storage :—Vaccine when stored at minus 15°C to minus 20°C may be expected to retain its potency for one year and about three months if stored in the freezing chamber of Refrigerator i.e. minus 5°C.

#### AVIAN ENCEPHALOMYELITIS VACCINE (LIVING)

1. Synonyms :—Avian Encephalomyelitis Vaccine—Freeze dried.

2. Definition :—A virus bearing tissue and fluid, suspension from embryonated hen's eggs.

3. Preparation :—The stock seed virus which has been established as pure, safe and immunogenic shall be used for preparing the vaccine.

- (i) Each lot of stock seed virus shall be tested for pathogenicity by chicken embryo inoculation test.
- (a) One dose of the seed lot shall be mixed with 9 volumes of sterile heat inactivated specific antiserum to neutralise vaccine virus in the product.
- (b) After neutralization, 0.2 ml. of serum vaccine mixture shall be inoculated into each

of atleast 20 fully susceptible chicken embryos (0.1 ml of the inoculum shall be inoculated on CAM of 9—11 days old embryos and 0.1 ml in the allantoic sac).

- (c) Eggs shall be candled for 7 days. Deaths occurring during first 24 hours shall be discarded but at least 18 viable embryos shall survive 24 hours post inoculation for a valid test. All embryos and CAMs from embryos which die after the first day shall be examined.
- (d) If the death or abnormality attributable to the inoculum occur, the seed lot is unsatisfactory.
- (ii) Immunogenicity test :—Avian encephalomyelitis susceptible chicks, all of same age (8 weeks old) shall be used. 20 chickens shall be inoculated with the field dose of the virus by prescribed route. Ten additional chickens of same age and flock shall be held as unvaccinated controls.

At least 21 days post vaccination, the controls and vaccinates shall be challenged intracerebrally with virulent avian encephalomyelitis virus, and observed each for 21 days. At least 80 per cent of controls shall show signs of avian encephalomyelitis or die. At least 19 of 20 vaccinates shall remain free from clinical avian encephalomyelitis during the observation period for the stock seed virus to be satisfactory.

## 4. Standards :—

- (a) Description :—Greyish white flakes easily dispersible in the diluent.
- (b) Identification :—At least 5-6 days old embryonated eggs (from hens with no history of infection with avian encephalomyelitis) shall be inoculated with 0.1 ml of undiluted vaccine into the yolk sac and kept in incubator and then transferred to the brooder where they are allowed to hatch. The hatched chicks shall be raised for 7 days. More than 50 per cent of hatched chicks shall manifest the typical symptoms (weak-leg, leg paralysis, tremor, etc.) at the end of this period.
- (c) Moisture content :—shall not exceed 1.0 per cent.
- (d) Sterility test :—Shall comply with the test for sterility described under general monograph on "Viral Vaccines".
- (e) Safety test :—At least 25 avian encephalomyelitis susceptible birds (6—10 weeks of age) shall be vaccinated with 10 field doses by the recommended route and observed each day for 21 days. If unfavourable reactions attributable to the vaccine occur during the observation period, the batch of vaccine is unsatisfactory.

## (f) Potency Test :—

- (i) The vaccine shall be titrated for virus content. To be eligible for release, the batch shall have a virus titre of at least  $10^{2.5}$  EID<sub>50</sub> per dose.
- (ii) At least 10 susceptible chickens shall be vaccinated with the field dose of the vaccine by prescribed route and 10 chickens from same batch and source shall be kept as unvaccinated controls.

At least 21 days post-vaccination, both the groups shall be challenged intracerebrally with Virulent avian encephalomyelitis virus and observed for 21 days. At least 8 out of 10 controls shall develop recognisable signs or lesions of vian encephalomyelitis.

5. Labelling :—Shall comply with the requirement of labelling as laid down in general monograph on "Viral Vaccines".

## MAREK'S DISEASE VACCINE (LIVING)

1. Synonyms :—Herpes virus of turkey vaccine, HVT vaccine (Living).

2. Definition :—Marek's disease vaccine is a suspension of cell free fluid containing live virus.

3. Preparation :—The stock seed virus which has been established as pure, safe and immunogenic in avian species shall be used for preparing the seed virus for vaccine production.

- (i) Safety Test :—The stock seed virus shall be non-pathogenic for chickens as determined by the following procedure :

The groups of at least 25 chickens each at one day of age shall be used. These chickens shall be of the same source and batch, be susceptible to Marek's disease and be kept in isolated group.

Group I : Each chicken shall be injected with 0.2 ml. of 10 times as much viable virus as will be contained in one dose of vaccine by intramuscular route.

Group II : Shall serve as controls. At least 20 chickens in each group shall survive for four days post injection. All chickens that die shall be necropsied and examined for lesions of Marek's disease and cause of death. The test shall be judged according to the following :—

At 120 days of age, the remaining chicken in both the groups shall be weighed, killed and necropsied. If at least 15 chicken in each of these two groups have not survived the 120 days period or if any of the chicken of group-I have gross lesions of Marek's disease at necropsy or if the average body weight of the chickens in Group-I is significantly (statistically) different from the average of Groups II at the end of 120 days, the lot of stock seed virus is unsatisfactory.

1805 GI/86—3

- (ii) Purity Test :—Shall be conducted in chickens and no lesions other than those typical of Turkey Herpes virus shall be evidenced.

- (iii) Immunogenicity test :—Sixty susceptible day old chicks are used. Thirty of them inoculated with the seed virus in a dose corresponding to the field dose of the final vaccine and 14—21 days later challenged by intra-abdominal route with virulent Marek's disease virus, alongwith the other 30 non-vaccinated control chicks. At the end of the observation period when the chicks are 20 weeks old, the surviving chickens are examined for the presence of antibody against Marek's disease by serological tests and post mortem inspection for lesions of Marek's disease.

Any bird dead is thoroughly examined and the cause of death ascertained by necropsy/histopathological examination. All the surviving birds are killed and necropsied. The protection index (P I) is determined by following procedure :

1.  $\%MD = \frac{\text{No. with MD lesions} \times 100}{\text{No. with MD lesions} + \text{No. of ve survivors (effective number)}}$   
Per cent MD in controls—per cent MD in vaccinated  $\times 100$
2. P.I. =  $\frac{\text{Per cent MD in controls}}{\text{Per cent MD in vaccinated}}$

Master seed virus should have P I of at least 80 per cent.

Eighty per cent of the chicks in the control group must fall ill specifically. If more than 80 per cent of the vaccinated chickens do not show symptoms or signs of Marek's disease, the seed virus is regarded as sufficiently effective and can be used for production of vaccine

The seed virus is propagated in duck embryo fibroblast cell culture, chick embryo fibroblast or any other suitable cell culture (specific pathogen free SPF flock) and when the peak passage level is attained, the cell monolayer is suspended in cold diluent of the following composition :

SPGA Stabilizer  
0.218 M Sucrose  
0.0038 M monosodium phosphate  
0.0072 M dipotassium phosphate  
L Monosodium glutamate 0.0049 M  
1 per cent bovine albumin (Fraction V)

0.25 per cent EDTA (Sterilised by setiz filtration and stored at minus 10°C). The virus is freed from cells by ultrasonication for 2 minutes (interrupted after every 30 seconds) at 100 MA and freeze dried at minus 60°C preferably in shelf freeze dried in convenient volumes. The doses per ampoule vial is calculated after titrating the freeze dried product in terms of plaque forming units (PFU) in the corresponding cell monolayers.

## 4. Standards :—

- (a) Description :—The cell free freeze dried HVT vaccine looks uniformly greyish in colour and easily dispersible in the specified diluent.

(b) Identification.—The vaccine on inoculation in suitable cell culture system shall cause cytopathic effect typical of Herpes virus of Turkey. Specific antiserum of Herpes virus of Turkey shall neutralize the cytopathic effect.

(c) Moisture content :—Moisture content shall not exceed one per cent.

(d) Sterility test :—Shall comply with the test prescribed in general monograph on "Viral Vaccines".

(e) Safety test :—At least 25 one day old chickens shall be injected with ten times of the field dose of vaccine by intramuscular route. The chickens shall be observed each day for 21 days. Chickens dying during the period shall be examined. Cause of death determined and the results recorded as follows:—

(i) If at least 20 chickens do not survive the observation period, the test is inconclusive.

(ii) If lesions of any disease or cause of death are directly attributable to the vaccine, the vaccine is unsatisfactory.

(f) Potency test :—The sample shall be titrated in the cell culture system. A satisfactory batch shall contain at least 1500 plaque forming units (PFU) per dose at release and maintain at least 1000 PFU till the end of expiry period.

5. Labelling.—Shall comply with the requirements of labelling as laid down in general monograph on "Viral Vaccines".

6. Storage and expiry date :—The freeze dried cell free HTV vaccine may be stored at 4°C for 6 months.

#### GOAT POX VACCINE (LIVING CELL CULTURE)

1. Synonym :—Goat Pox Vaccine (living). Attenuated goat pox vaccine.

2. Definition.—Goat pox vaccine is freeze dried preparation, prepared by growing attenuated goat pox virus in kid kidney/testicular cell culture.

3. Preparation :—Primary kidney/testicular cell cultures of disease free kid are used. The monolayers infected with the seed virus are incubated at 37°C. The cultures are harvested by three cycles of freezing and thawings 6 to 7 days postinfection when more than 80 per cent cells show CPE. The suspension is centrifuged at 1000 rpm for 10 minutes to remove cellular debris before being stored at minus 20°C. The suspension is freeze dried after addition of 5 per cent Lactalbumin hydrolysate and 10 per cent sucrose.

4. Standard:—

(a) Description.—Light yellow colour.

(b) Identification :—The product affords protection to goat against goat pox.

(c) Moisture content :—The moisture content shall not exceed 1.0 per cent.

(d) Safety tests.—

(i) Laboratory animals : Six mice, 3 guinea pigs and 3 rabbits are inoculated with 0.2 ml. intraperitoneally, 0.5 ml. and 1.0 ml. subcutaneously, respectively with 10 field doses of the vaccine. The inoculated animals during the observation period of 10 days shall remain normal.

(ii) Goat : Two susceptible goats of 6 to 8 months of age are inoculated in post-exillary region by subcutaneous route with one hundred field dose of the vaccine. The inoculated animals shall not develop more than a local reaction of 2 to 3 cms. These animals shall be observed for 10 days.

(e) Sterility test.—Shall comply with the test for sterility described under the general monograph on "Viral Vaccines".

(f) Titration in cell culture :—Four randomly selected samples are inoculated in kid kidney cell cultures using 5 tubes for each dilution. The titration shall be repeated thrice. One thousands TCID<sub>50</sub> is used as a field dose.

(g) Potency Test.—The susceptible goats (8-10 months) are inoculated with 1/10th field dose and 3 susceptible goats (8-10 months) with one field dose, subcutaneously. Three in-contact controls are also kept with the inoculated goats. These animals are observed for a period of 14 days and their body temperature recorded daily. The vaccinated animals shall not show any thermal, local or generalised reaction. Twenty one days postinfection, the vaccinated and controls are challenged with 10,000 TCID<sub>50</sub> of virulent goat pox virus by intradermal route. The temperature of these goats are recorded for a period of 14 days. The vaccinated goats shall not develop localised or generalised reaction while control goats shall develop high fever, localised reaction or even generalised reaction in some cases.

5. Labelling :—Shall comply with requirements of labelling as laid down in the general monograph on "Viral Vaccines".

6. Storage and expiry date.—The vaccine is expected to retain its potency for 12 months if stored at minus 15°C to minus 20 degree C and for three months at 2 to 4°C.

#### Sheep Pox Vaccine (Inactivated)

1. Synonym :—Formal gel sheep pox vaccine.

2. Definition :—Sheep pox vaccine is a formaline inactivated gel treated tissue vaccine

3. Preparation :—Healthy susceptible sheep of 8-12 months of age are inoculated subcutaneously with

500 ml. of the 1 : 100 dilution of the Russian Virulent Sheep Pox Virus. Seventh to eight day post inoculation skin of the abdomen alongwith the oedema is collected. The infected tissues are homogenised in 10 per cent concentration in phosphate buffer (pH 7.4-7.6) which after the extraction of the virus is mixed with sterile gel and buffer in following proportion.—

6 per cent aluminium hydroxide gel—50 per cent.

Phosphate Buffer (pH 7.6)—35 per cent.

10 per cent suspension—15 per cent.

This is later formalised and at 20-25°C; 10°C for varying periods.

#### 4 Standards :—

- (a) Description :—It is a greyish white suspension. During storage the gel settles at the bottom, upper layer of the suspension is clear.
- (b) Identification :—This product affords protection to sheep against sheep pox.
- (c) Safety test :—This is carried out by inoculating 2 white mice with 0.2 ml., one guinea pig with 1.0 ml. and one rabbit with 3.0 ml. of vaccine. The animals should remain clinically healthy for 10 days.
- (d) Sterility test :—This is done by seeding the vaccine on usual bacterial media. The plates and tubes are incubated for 10 days at 37°C. If the pathogenic bacteria are found, the vaccine is rejected while with non-pathogenic bacteria the vaccine is passed for field use.
- (e) Potency test :—This is done by inoculating 4 non-immune susceptible sheep preferably exotic breed of 1-2 years with 3 ml. of vaccine in the thigh, subcutaneously.

The vaccinated sheep are challenged 15 days after inoculation alongwith 3 controls each with 0.1 ml. of virulent virus containing 200 infective doses intradermally under the tail. The sheep are observed for 10 days and their skin reaction recorded. The vaccine is considered potent if all the vaccinated sheep do not show thermal or local skin reaction. Vaccine is also potent if 3 vaccinated animals do not develop any reaction and one shows abortive skin reaction, while atleast 2 of the 3 controls develop typical sheep pox reaction at the site of inoculation.

5. Labelling :—Shall comply with the requirements of labelling as laid down in the general monograph on "Viral Vaccines".

6. Storage : The vaccine shall be stored at 4 to 5°C. It keeps well at above temperature upto 12 months.

#### Sheep Pox Vaccine (Living Cell Culture)

1. Synonym :—Sheep pox vaccine (Living), attenuated sheep pox vaccine.

2. Definition :—Sheep pox vaccine is freeze dried preparation prepared by growing attenuated sheep pox virus in lamb kidney/testicular cell cultures.

3. Preparations :—Primary cell cultures prepared from kidney/testicles of disease free lambs are used. The monolayers infected with the seed virus are incubated at 37°C. The cultures are harvested by 3 cycles of freezing and thawing 6 to 7 days post infection when more than 80 per cent cells show C.P.E. The suspension is centrifuged at 1000 r.p.m. for 10 minutes to remove cellular debris before being stored at minus 20°C. The suspension is freeze dried after addition of 5 per cent Lactalbumin hydrolysate and 10 per cent sucrose.

#### 4. Standards :—

- (a) Description :—Light yellow colour.
- (b) Identification :—The product affords protection to sheep against sheep pox.
- (c) Moisture contents :—The moisture contents should not exceed 1.0 per cent.
- (d) Safety tests :—
  - (i) Six mice, 3 guinea pigs and 3 rabbits are inoculated with 0.2 ml intraperitoneally, 0.5 ml and 1.0 ml. subcutaneously, respectively with the 10 field doses of the vaccine. The inoculated animals during the observation period of 10 days should remain normal.
  - (ii) One hundred field doses of the vaccine are inoculated sub-cutaneously into each of 2 susceptible sheep in postaxillary region. Inoculated animals shall not develop more than a local reaction of 2 to 3 cms.
- (e) Sterility test :—Shall comply with the test for sterility as described under the general monograph on "Viral Vaccines".
- (f) Titration in cell culture :—Four randomly selected samples reconstituted in a maintenance medium are inoculated in lamb kidney cell cultures using 5 tubes for each dilution. The titrations shall be repeated thrice. The TCID<sub>50</sub> to be calculated by Reed and Muench method. One thousand TCID<sub>50</sub> is calculated as one field dose.
- (g) Potency test :—Three susceptible sheep, 8-10 months old are inoculated with 1/10th, field dose and 3 susceptible sheep with one field dose, subcutaneously. Three incontact controls are also kept with the inoculated sheep. These animals are observed for a period of 14 days and their temperature is recorded daily. The vaccinated animals should not show any thermal, local or generalized reactions. Twenty one days post infection the vaccinated and controls are

challenged with 10,000 ID<sub>50</sub> of virulent sheep pox virus by intradermal route. The temperature of these sheep are recorded for a period of 14 days. The vaccinated sheep should not develop localised or generalised reaction while control sheep should develop high fever, localised reaction or even generalised reaction in some cases.

5. Labelling :—Shall comply with requirements of labelling as laid down in the general monograph on "Viral Vaccines".

6. Storage and expiry date :—The vaccine is expected to retain its potency for 12 months if stored at minus 15°C to minus 20°C and three months at 2°C to 4°C.

#### *Tissue Culture Rinderpest Vaccine*

1. Synonyms—Cell culture Rinderpest Vaccine.

2. Definitions—Tissue culture Rinderpest vaccine is a freeze dried preparation of live modified rinderpest virus adapted to and propagated in cell culture.

3. Preparations :—Primary or secondary monolayer cultures of the kidney cells (Bovine or any other suitable animal) taken from kidney from healthy animals free from any Pathological changes shall be used. When secondary cultures are used they shall have retained their original morphology and Karyotype. Kabete 'O' strain of Rinderpest virus developed by East African Veterinary Research Organisation (Flow-right's strain between the passage levels of 99th and 100th passages) shall be used. The virus harvested from cell monolayer culture prepared from the kidneys of a single calf or serially cultivated bovine kidney cells (Not more than 10 passages away from the primary) inoculated with the same seed and harvested together, will be freeze dried with stabilisers in suitable quantities.

4. Standards :—It complies with the requirements of general standards of viral vaccines.

(a) Description—Dry light yellow coloured flakes readily soluble in chilled saline or buffered saline.

(b) —Identifications—(i) Protects cattle against a subsequent challenge with virulent or caprinised rinderpest virus.

(ii) It is titrable in tissue culture systems capable of supporting the multiplication of this virus. The test shall be made on at least three separate occasions using cell culture derived from different animals.

(iii) Specificity test shall be performed using an appropriate serum neutralisation test.

(c) Sterility tests :—Each batch shall be tested for bacterial and mycotic sterility as given in general monograph on "Viral Vaccines".

(d) Innocuity test :—Shall be made on each batch in at least two guinea pigs and six mice. These animals shall be observed for at least two weeks for any untowards reaction.

(e) Safety and efficacy test :—The test of safety and efficacy shall be performed using the pooled reconstituted contents of not less than 4 ampoules taken at random. The vaccine shall be injected subcutaneously into each of at least two susceptible cattle free from specific antibodies using the quantity containing not less than 100 field doses and two further cattle using 1/10th of a field dose (calculated on the basis of 1000 TCID<sub>50</sub> as one field dose). The animals shall be housed with at least two unvaccinated animals and observed for a period of three weeks. The vaccine passes the safety test if the cattle show no signs of unusual clinical reactions.

At the end of three weeks all the four animals will be challenged alongwith two incontact cattle with a challenge dose of not less than 10<sup>4</sup> CID<sub>50</sub> of virulent Rinderpest virus. The vaccine passes the potency/efficacy test if the incontact animals develop rinderpest and all the vaccinated animals remains normal.

5. Labelling :—Shall comply with general monograph on "Viral Vaccines". Each ampoule or at least 50 per cent ampoules in a lot shall contain at least the following print :—

(i) TCRP Vaccine.

(ii) Batch No. with year.

(iii) General instructions for use

6. Storage :—The vaccine when stored at minus 20°C and plus 4°C will maintain its titre for 2 years and 6 months, respectively.

#### *Canine Distemper Vaccine*

1. Synonyms :—Canine distemper vaccine (Living)—freeze dried.

2. Definitions :—It is a freeze dried preparation of either tissues from chick embryo containing egg adapted strain of canine distemper virus or the cell culture in which modified virus has been cultivated.

3. Preparation :—Canine distemper vaccine shall be prepared from virus bearing cell culture, fluid or infected chorioallantoic membrane. Only stock seed virus which has been established as pure, safe and immunogenic shall be used for the preparation of vaccine. Stock seed virus propagated in chicken embryo shall be tested for pathogen by chicken embryo test. One volume of the virus shall be mixed with 9 volume of specific sterile heat inactivated serum to neutralise the virus. Mixture shall be inoculated into twenty 9 to 11 days old chicken embryo (with 0.1 ml. on CAM and 0.1 ml. in allantoic sac). Embryonated eggs shall be candled for 7 days daily. Deaths occurring in the first 24 hours shall be discarded. CAMS of Embryos which die after 24 hours shall be examined. When necessary embryo sub culture shall be made to determine the cause of death. The test should be concluded on the 7th day post inoculation.

The surviving embryos and their CAMS are examined. If deaths of abnormality due to the inoculum occur, the seed virus is unsatisfactory.

**Immunogenicity test:**—Thirteen susceptible dogs 8-14 weeks old, shall be used for the test (ten Vaccinates and 3 controls). Blood samples are drawn from these animals and individual sample is tested for antibodies against-canine distemper. Ten dogs shall be injected with a predetermined quantity of the virus and remaining 3 dogs are used as unvaccinated controls. The dose shall be based on the virus titration. At least 21 days post infection the vaccinated and controls shall be challenged intramuscularly with the same dose of virulent canine distemper virus and the animals are observed each day for 21 days. At least 2 out of 3 controls should die and survivors should show the symptoms typical of canine distemper. At least 9 out of 10 vaccinated animals should survive and should not show any clinical signs of canine distemper during the observation period. The stock seed virus should be tested for immunogenicity, at least once in 5 years, if maintained under suitable conditions of storage. Eight days old chicken embryos from a healthy flock, are inoculated on their chorioallantoic membrane with bacteriologically sterile virus suspension of egg adapted strain. After incubation for a period of five days, infected membrane and embryos are harvested. The individual embryo is tested for bacterial sterility. Those free from bacterial contamination are made into a 20 per cent suspension in a suitable medium. The suspension is distributed in a single dose quantity into the ampoules or vials and freeze dried.

The ampoules are sealed under vacuum or with pure dry sterile nitrogen before sealing. Alternatively, the virus may be grown on the suitable cell culture. Cells along with the suspending fluid is harvested, distributed in single dose quantity in ampoules, and freeze dried.

#### 4. Standards:—

- (a) **Description:**—It is a dry product, pinkish cream material, readily dispensable in water.
- (b) **Identification:**—It infects CAM of fertile eggs. This is neutralised by canine distemper antiserum. It does not cause distemper after injection into susceptible ferrets or dogs but immunizes them against the disease.
- (c) **Moisture content:**—Moisture content in the finished product shall not exceed more than 1.0 per cent.
- (d) **Sterility test:**—Shall comply with the test for sterility as described in the general monograph on "Viral Vaccines".
- (e) **Safety tests:**—(i) Mice safety test; Reconstituted vaccine as recommended on the label shall be tested.

Eight mice, 4 weeks old shall be inoculated intracerebrally with 0.03 ml. and 8 mice shall be inoculated intraperitoneally with 0.5 ml. Both groups shall be observed for 7 days, if unfavourable reaction attributable to the product in either 2 or more mice in either group is observed during observation period, the batch is unsatisfactory.

1805 GI/86—4

- (ii) **Dog Safety test:**—Two healthy susceptible dogs are inoculated with 8 to 10 vaccinating doses of the vaccines rehydrated in sterile diluent as per the prescribed route and observed for 21 days. None of the vaccinated pups should show any local or systemic reaction.

- (f) **Potency test:**—Virus titration : Final samples of finished product shall be tested for virus titre, and when tested at any time within the expiry period, it should contain not less than  $10^{5.0}$  LD<sub>50</sub> per dose.

- (ii) It shall be carried out in dogs. Two healthy susceptible dogs each of 8-14 weeks of age free from distemper neutralizing antibodies, are injected subcutaneously each with one vaccinating dose. Serum samples shall be collected from each dog 14 days after vaccination and these shall have specific neutralizing antibodies at a dilution of 1 : 100.

5. **Labelling:**—Shall comply with the requirements of labelling as laid down in the general monograph on "Viral Vaccines".

6. **Storage and expiry date:**—For the freeze dried product, the expiry date is one year when stored at minus 20°C.

### AVIAN INFECTIOUS BRONCHITIS VACCINE (LIVING)

1. **Synonyms:**—Avian Infectious Bronchitis Vaccine (Living) freeze dried.

2. **Definition:**—It is a freeze dried product of low virulent Avian Infectious Bronchitis Virus grown in embryonated hen's eggs or cultivated in cell culture.

3. **Preparation:**—Only stock seed virus which has been established as pure, safe and immunogenic shall be used. Each lot of stock seed virus shall be tested for other pathogens by chicken embryo inoculation tests as follows:—

A lot of seed virus shall be mixed with 9 volumes of sterile heat inactivated specific antiserum to neutralise and the vaccine virus serum mixture shall be inoculated into each of at least 20 fully susceptible chicken embryos of 9-11 days old (0.1 ml. on CAM and 0.1 ml. in the allantoic sac). Eggs are candled daily for 7 days. Deaths occurring during first 24 hours shall be disregarded but atleast 18 viable embryos shall survive 24 hours post inoculation for a valid test. All embryo and CAMS from embryos shall be examined which die after 24 hours. If necessary embryo subcultures shall be made to determine the cause of death. The test shall be concluded on the 7th day post inoculation and surviving embryos including the CAM shall be examined. If death and/or abnormality attributable to the stock seed virus occur, the seed lot is unsatisfactory.

Each lot of stock seed virus shall be tested for immunogenicity as below:—

Bronchitis susceptible chickens of the same age and source shall be used. For each method of administration recommended on the label and for each serotype against which protection is claimed, 20 chicks shall be used as vaccinates. Ten additional chickens for each serotypes against which protection is claimed shall be held as unvaccinated controls. 21 to 28 days post vaccination all vaccinates and controls shall be challenged by eye drop with virulent Bronchitis virus. A separate set of vaccinates and controls shall be used for each serotype against which protection is claimed. The challenge virus shall have a titre of at least  $10^{4.6}$  EID<sub>50</sub> per ml. Trachea swabs shall be taken once 5 days post challenge from each vaccinates and controls. Each swab shall be placed in test tube containing 3 ml. of tryptose phosphate broth and antibiotics. The tubes and swabs shall be swirled thoroughly and stored at minus 40°C pending egg inoculation. For each chicken swabs at least 5 chicken embryos, 9-11 days old shall be inoculated in the allantoic cavity with 0.2 ml. of broth from each tube. All the embryos surviving 3rd day post inoculation shall be used in the evaluation. A tracheal swab shall be positive for virus recovery when any of the embryos show typical infectious bronchitis virus lesions such as stunting, curling, kidney urates, clubbed down or death during 4-7 days post inoculation period.

90 per cent of the controls should prove positive for virus recovery. If less than 90 per cent of the controls are negative for virus recovery, the stock seed is unsatisfactory. The stock seed virus should be tested for immunogenicity once in 5 years provided it is maintained under standard conditions of the bronchitis virus storage.

#### 4. Standards :—

- (a) Description :—It is greyish-white product easily dispersible in the diluent.
- (b) Identification :—(i) The contents of the ampoule are suspended as per the instructions for the field use. The 0.2 ml. of the suspension shall be inoculated in the allantoic cavity of 9-11 days old chicken embryos and are incubated for 7 days. The lesions typical of infectious bronchitis shall be observed in the embryos at the end of incubation period. The allantoic fluid shall not agglutinate the chicken RBC's.
- (ii) Specific antisera against avian infectious bronchitis virus should neutralise the vaccine virus.
- (c) Moisture content.— Moisture content in the finished product should not exceed 1.0 per cent.
- (d) Sterility test :—Complies with the test for sterility as described under the general monograph on "Viral Vaccines".
- (e) Safety test :—Ten healthy susceptible chickens 5-10 days old from the same source, batch shall be vaccinated with ten field doses of the vaccine and alongwith five chicks from same batch as unvaccinated controls by the prescribed route and observed for 21 days post vaccination. Neither severe respiratory symptoms nor death shall occur to more than one experimental chicks. None of the unvaccinated controls shall show any clinical symptoms.
- (f) Potency test :—The minimum virus content of the freeze dried product shall be not less than 300 LID<sub>50</sub> per bird. The virus content of the vaccine shall be titrated as below.

Serial ten fold dilution of the freeze dried material will be made in tryptose phosphate broth. Three to five embryonated eggs (9-11 days old) shall be inoculated with 0.1 ml. of each dilution into the allantoic cavity and observed daily for 7 days. Deaths occurring during the first 24 hours shall be discarded. The surviving embryos are examined for the evidence of infection and EID<sub>50</sub> shall be calculated by the Reed and Muench Method/Spearman and Karber method.

5. Labelling :—Shall comply with the requirement for labelling as laid down in the general monograph on "Viral Vaccine".

6. Storage and expiry date :—Can be stored at 4°C for six months".

[No. X-11013/3/82-DMS & PFA]

S. V. SUBRAMANIYAN, Jt. Secy.

Note :—The Drugs and Cosmetics Rules, 1945, as amended upto 1-5-1979, is contained in the publication of the Ministry of Health and Family Welfare (Department of Health) containing the Drugs and Cosmetics Acts and the Rules (PDGHS-61), Subsequently the said rules have been amended by the following notifications published in Part II, Section 3(i) of the Gazette of India, namely :—

1. GSR 1241 dated 6-10-1979.
2. GSR 1242 dated 6-10-1979.
3. GSR 1243 dated 6-10-1979.
4. GSR 1281 dated 12-10-1979.
5. GSR 430 dated 19-4-1980.
6. GSR 779 dated 26-7-1980.
7. GSR 540(E) dated 22-9-1980.
8. GSR 680(F) dated 5-12-1980.
9. GSR 681(E) dated 5-12-1980.
10. GSR 682(E) dated 5-12-1980.
11. GSR 27(F) dated 17-1-1981.
12. GSR 478(F) dated 6-8-1981.
13. GSR 62(E) dated 15-2-1982.
14. GSR 462(E) dated 22-6-1982.
15. GSR 510(E) dated 26-7-1982.
16. GSR 13(E) dated 7-1-1983.
17. GSR 318(E) dated 1-5-1984.
18. GSR 331(E) dated 8-5-1984.
19. GSR 460(E) dated 20-6-1984.
20. GSR 487(F) dated 2-7-1984.
21. GSR 89(E) dated 16-2-1985.
22. GSR 788(E) dated 10-10-1985.
23. GSR 17(E) dated 7-1-1986.
24. GSR 1049(E) dated 29-8-1986.
25. GSR 1060(E) dated 5-9-1986.
26. GSR 1115(E) dated 30-9-1986.
27. GSR 71(E) dated 30-1-1987.